

УДК 575:57.022:57.042

О. В. Горенская, А. Б. Гаврилов\*, Ю. Г. Шкорбатов В. А. Катрич

## ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА НА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ ДРОЗОФИЛЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ МАЛЫХ ДОЗ СВЕРХВЫСОКОЧАСТОТНОГО ЭЛЕКТРОМАГНИТНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина (г. Харьков)

\*Метрологический центр военных эталонов ВС Украины (г. Харьков)

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы отдела генетики НИИ биологии ХНУ имени В. Н. Каразина, номер государственной регистрации 0109U001339.

**Вступление.** За последние 50-60 лет возник и сформировался новый значимый фактор окружающей среды - электромагнитные поля (ЭМП) антропогенного происхождения. Мощность излучения техногенных источников превышает мощность естественных источников [12]. Действительно, с каждым годом возрастают уровни мощности электромагнитного излучения, создаваемые всевозможными искусственными источниками. К таким источникам относятся теле- и радиопередающие центры, радиолокационные станции (установки) различного назначения, системы радиосвязи, в том числе системы сотовой и спутниковой связи, различные электробытовые приборы (телевизоры, компьютеры, холодильники, кондиционеры и т. д.), технологические промышленные установки. В то время как живые организмы были окружены электромагнитными полями естественных источников миллионы лет и в процессе эволюции успели к ним адаптироваться, искусственно созданные ЭМП являются новым фактором окружающей среды и множество различных аспектов действия их на биологические объекты остается не изученными [6].

При изучении воздействия низкоинтенсивного сверхвысококачастотного электромагнитного излучения (СВЧ ЭМИ) на биологические объекты особо актуальным представляется вопрос о его влиянии на геном, в частности, на различные уровни регуляции генетической активности, и зависимость этого влияния от генотипа особей [13].

В качестве модели для проведения исследований выбрана плодовая муха *Drosophila melanogaster*. Одна из важных характеристик этого объекта - фенотипическое проявление мутаций, блокирующих основные метаболические пути. Кроме того, 39% генов ее полностью секвенированного генома, гомологичны генам человека [25]. Это делает дрозофилу оптимальной моделью для изуче-

ния различных аспектов действия низкоинтенсивного сверхвысококачастотного электромагнитного излучения.

Изменение характера проявлений адаптивно-важных признаков у дрозофилы после воздействия электромагнитных полей показано многими авторами, но результаты значительно различаются [2, 14, 17-21, 23].

Приспособленность генотипов к различным условиям существования определяется, в первую очередь, репродуктивным успехом, т. е. количеством потомков. Важнейшими компонентами приспособленности являются жизнеспособность и плодовитость.

**Целью данной работы** был анализ генетически детерминированного показателя приспособленности, как одного из компонентов адаптивной ценности, у *Drosophila melanogaster* при кратковременном воздействии СВЧ ЭМИ.

**Объект и методы исследования.** В работе использовалась неселектированная линия дикого типа Canton-S (C-S), мутантная линия black (2-48. 5, положение на цитологической карте 34E5-35D1) и линия с замещенным генотипом blackCanton-S (мутация black перенесена на генетический фон линии дикого типа Canton-S путем возвратных насыщающих скрещиваний [4]) *Drosophila melanogaster*. Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре  $24 \pm 0, 50$  С. В качестве объекта воздействия использовали 3-х часовые синхронизированные кладки яиц от четырехдневных имаго. Для получения синхронизированных кладок виргинных самок содержали в течение трех дней на стандартной среде, а затем скрещивали в течение суток с трехдневными самцами и помещали в пробирки на два часа. Определялось количество потомков от одной пары мух на стадии куколки (учитывалось количество пупариев) и стадии имаго. В качестве контроля использовали синхронизированные кладки, полученные от мух линии C-S, которые развивались на стандартной среде, без внешнего воздействия.

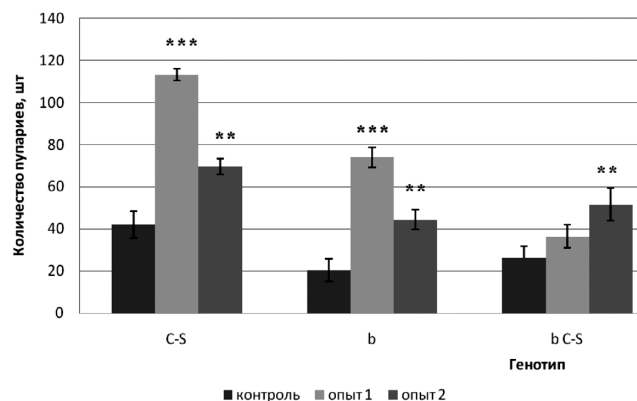
Учет потомства проводили от 150 самок в каждом варианте опыта.

Для получения электромагнитного излучения с заданными характеристиками (частота - 37, 7 ГГц, плотность потока энергии в точке размещения объекта - 10 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 1) и 100 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 2) использовали генератор высокочастотный Г4-156 и измерительные антенны типа П6-10А и П6-11А. Плотность потока энергии в точке размещения объекта контролировалась ваттметром МЗ-22А [5, 10].

Время воздействия ЭМИ на объект в экспериментах составляло 10 секунд.

Количество потомков, оставленных одной парой особей, зависит от плодовитости родителей и жизнеспособности потомков на эмбриональной, личиночной и куколочной стадиях развития. Учитывая это, мы оценивали показатели реальной плодовитости (среднее количество образовавшихся пупариев от одной пары мух), жизнеспособности (среднее число потомков на стадии имаго от одной пары мух) и показатель приспособленности (относительной эффективности размножения) [1]. Относительная приспособленность особей рассчитывалась как отношение среднего числа потомков от одной пары мух (во всех вариантах опыта) к среднему числу потомков от одной пары мух линии C-S (контроль). Полученные результаты обрабатывали методами вариационной статистики [7].

**Результаты исследований и их обсуждение.** Результаты экспериментов по изменению показателя реальной плодовитости при действии электромагнитного излучения с различными характеристиками (варианты опытов 1 и 2) представлены на рисунке 1.



**Рис. 1.** Реальная плодовитость у линий с разным генотипом при действии СВЧ.

Примечание: \*\* достоверность отличий от контроля  $p < 0, 01$ ;

\*\*\* достоверность отличий от контроля  $p < 0, 001$ .

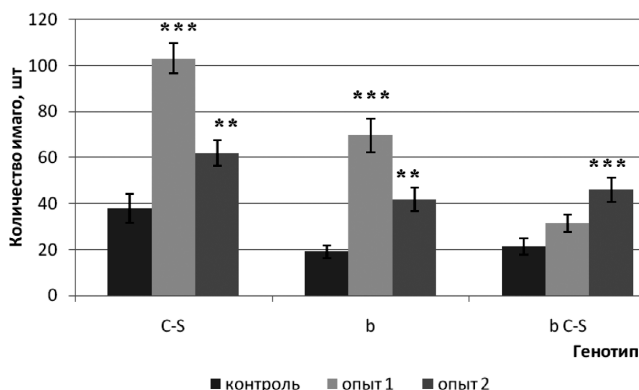
Результаты работы показали увеличение ( $p < 0, 001$ ) реальной плодовитости в опыте 1 у линий Canton-S и black по сравнению с уров-

нем контроля в 2, 8 и 3, 6 раза соответственно.

Кратковременное воздействие СВЧ ЭМИ во всех вариантах опыта 2 привело к возрастанию, но не так ярко выраженному, как в опыте 1, показателя реальной плодовитости ( $p < 0, 01$ ) по сравнению с контролем. Увеличение данного показателя составило 65, 8%, 118, 2% и 97, 3% от уровня контроля у линий Canton-S, black и blackCanton-S соответственно.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил зависимость показателя реальной плодовитости от интенсивности внешнего воздействия  $F = 41, 11$ , генотипа  $F = 17, 94$  и комбинации этих двух факторов  $F = 7, 86$ . Сила влияния составила соответственно 60, 53 % ( $p < 0, 001$ ), 26, 42% ( $p < 0, 001$ ) и 11, 58% ( $p < 0, 001$ ).

Результаты экспериментов по изменению показателя жизнеспособности при действии электромагнитного излучения с различными характеристиками (варианты опытов 1 и 2) представлены на рисунке 2.



**Рис. 2.** Влияние СВЧ на показатель жизнеспособности у линий с разным генотипом.

Примечание:

\*\* достоверность отличий от контроля  $p < 0, 01$ ;

\*\*\* достоверность отличий от контроля  $p < 0, 001$ .

В опыте 1 количество потомков на стадии имаго увеличивается ( $p < 0, 001$ ) по сравнению с контролем у линии дикого типа Canton-S и мутантной линии black. Жизнеспособность у линии с замещенным генотипом blackCanton-S изменяется только в опыте 2.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал зависимость жизнеспособности как от интенсивности СВЧ облучения  $F = 24, 16$  и генотипа  $F = 24, 09$ , так и от сочетанного действия этих факторов  $F = 4, 66$ . При этом сила влияния различных доз СВЧ составила 44, 81% ( $p < 0, 001$ ), генотипа 44, 69% ( $p < 0, 001$ ), сочетанного действия обоих изучаемых факторов - 8, 64% ( $p < 0, 05$ ).

Анализируя полученные результаты, видно, что действие ЭМИ СВЧ с частотой - 37, 7 ГГц и плотностью потока энергии в точке размещения объекта - 10 мкВт/см<sup>2</sup> (результаты опыта 1) приводит к изменению показателей реальной плодовитости и жизнеспособности, соответственно, к резкому возрастанию относительной приспособленности у мух дикого типа и мутантных мух. Особи с замещенным генотипом оказались более устойчивыми к данному воздействию.

Действие ЭМИ СВЧ с частотой - 37, 7 ГГц и плотностью потока энергии в точке размещения объекта - 100 мкВт/см<sup>2</sup> (опыт 2) сопровождается увеличением относительной приспособленности у всех линий, используемых в работе. Следует также отметить, что процент особей, погибших на стадии куколки, достоверно не отличался от уровня контроля во всех вариантах эксперимента.

Влияния электромагнитных полей на проявление различных адаптивно важных признаков у дрозофилы изучалось и ранее, однако данные, полученные разными авторами, значительно различаются.

Ранее, в экспериментах на дрозофиле отмечено увеличение продолжительности развития особей на стадии куколки [14] после облучения личинок дикого типа *D. melanogaster* электромагнитным полем частотой 10 ГГц на протяжении 3, 4 и 5 часов с получасовыми интервалами, а также, в некоторых вариантах опытов показано снижение количества потомков на стадии имаго. Длительное влияние ЭМ поля с частотой 2450 МГц уменьшает количество яиц у самок дрозофил дикого типа по сравнению с контролем [21]. Снижение репродуктивной активности показано и при длительном воздействии пульсирующими электромагнитными полями, источниками которых служила GSM (Global System for Mobile Telecommunications) с частотой 900 МГц [20]. С другой стороны, согласно работам [19, 24], суточное воздействие ЭМИ с частотой 60 Гц на *Drosophila melanogaster* на стадии третьего личиночного возраста не приводит к достоверному снижению количества яиц, и, соответственно, к количеству потомков на стадии имаго. Облучение электромагнитным полем интенсивностью 68 мкВт/см<sup>2</sup> не вызывает достоверных изменений жизнеспособности на стадии куколки, облучение же электромагнитным полем большей интенсивности (180 мкВт/см<sup>2</sup> и 265 мкВт/см<sup>2</sup>) приводит к снижению жизнеспособности *D. melanogaster* [2]. Кроме того, в наших исследованиях было показано, что микроволновое излучение (частота 78, 9 ГГц, интенсивность 100 мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения 30 и 60 секунд) вызывало значительное снижение плодовитости дрозофилы [18]. Микроволно-

вое излучение с другими характеристиками (частота 42, 25 ГГц, интенсивность 200 мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения 10 минут) также оказывало негативный эффект на плодовитость дрозофилы [23]. Подобный же эффект снижения плодовитости дрозофилы наблюдался при действии микроволн с частотой 35 ГГц (интенсивность 180 и 265 мкВт/см<sup>2</sup>, время облучения 10 секунд) [17].

Анализируя данные литературы можно сделать вывод, что при постановке эксперимента имеет значение как стадия развития особи, на которой прошло воздействие, так и интенсивность воздействия. Кроме того, не менее важно использование высокоточных приборов для достоверного формирования ЭМИ с заявленными параметрами [10].

Изменение показателя относительной приспособленности у дрозофилы, показанного в нашей работе, можно в некоторой степени объяснить изменениями гормонального баланса в гемолимфе насекомых, вызванного внешним стрессовым воздействием. Известно, что существует отрицательная корреляция между уровнем 20-гидроксиэкдизона и количеством отложенных самками яиц [22]. В то же время при стрессе у насекомых повышается и уровень ювенильного гормона [8, 9]. Можно предположить, что внешнее стрессовое воздействие, изучаемое в работе, приводит к изменению баланса основных гормонов развития в гемолимфе насекомых, а именно экдистерона и ювенильного гормона. Косвенным доказательством нашего предположения является и увеличение продолжительности развития особей на стадии куколки, показанное в работе [14]. Однако авторы, к сожалению, не обсуждали полученные результаты в данном аспекте.

При объяснении эффектов от действия ЭМИ СВЧ, показанных в данной работе, необходимо учитывать генотип объекта воздействия. Мутация *black* локализована в хромосоме 2 и обуславливает темный цвет тела у имаго. Известно, что меланизация у большинства организмов имеет адаптивное значение [16]. Так, меланины, обуславливающие темный цвет тела, поглощают УФ лучи и, тем самым, защищают ткани от повреждения [3], принимают участие в формировании устойчивости у дрозофилы при действии различных патогенов [15]. Очевидно, что пигменты в некоторой степени защищают и от воздействия сверхвысокочастотного электромагнитного излучения, поскольку у мух, имеющих морфологическую мутацию, наблюдаемый эффект выражен в меньшей степени, чем у мух дикого типа. Следует отметить, что линия с замещенным генотипом *blackCanton-S* оказалась более устойчивой к исследуемому внешнему воздействию, чем

линия дикого типа Canton-S и мутантная линия black. Очевидно, это следствие влияния генетического фона линии дикого типа. Согласно мнению С. С. Четверикова, один и тот же ген проявляет себя различно в зависимости от того комплекса генов, которыми он окружен [11].

**Выводы.** Установлено, что кратковременное воздействие СВЧ ЭМИ на синхронизированные кладки мутантных линий и линий дикого типа дрозофилы оказывает стимулирующий, но зависимый от плотности потока энергии эффект, вызывая увеличение показателя относительной приспособленности (относительной эффективности размножения), как генетически детерминированного количественного признака. Результаты двухфакторных дисперсионных анализов показали достоверную зависимость показателей реальной плодовитости и жизнеспособности от интенсивности СВЧ облучения, генотипа и сочетанного действия обоих изучаемых факторов. Линия с замещенным генотипом blackCanton-S оказалась более устойчивой к исследуемому воздействию, чем линия дикого типа Canton-S и мутантная линия black.

**Перспективы дальнейших исследований.** В продолжении темы планируется изучить взаимосвязь содержания меланинов в различных частях тела дрозофилы (мутации, вызывающие изменение цвета глаз, тела) с адаптивно важными признаками при воздействии малых доз ЭМИ СВЧ.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Айала Ф. Современная генетика / Ф. Айала, Дж. Кайгер // М. : Мир, 1988. – Т. 3. – 336 с.
2. Влияние магнитного поля и микроволнового излучения на жизнеспособность дрозофилы / Ю. Г. Шкорбатов, В. Н. Пасюга, Л. А. Шакина [и др.] // Достижения і проблеми генетики, селекції та біотехнології. Збірник наукових праць. – Т. 1. – Київ, 2007. – С. 334-338.
3. Воробьева Л. И. Изучение взаимосвязи содержания меланина с адаптивными свойствами некоторых мутантных линий дрозофилы / Л. И. Воробьева, Н. Н. Калабухова // Биологический вестник. – 2001. – №1-2. – С. 139-142.
4. Зими́на Л. Н. Межлинейный гетерозис у дрозофилы / Л. Н. Зими́на // Журнал общей биологии. – 1977. – Т. 38. – № 4. – С. 595-602.
5. Коршунов В. А. Метод уменьшения погрешности измерений мощности СВЧ путем электрической подстройки КСВН измерительного преобразователя с помощью изменения сопротивления рабочего термистора / В. А. Коршунов, В. Л. Воронов, Д. Н. Голуб // Информационно-измерительные и управляющие системы. – 2004. – №4. С. 30-32.
6. Кучин Л. Ф. Биологические объекты во внешних и внутренних магнитных полях / Л. Ф. Кучин // Харьков: Учен. центр в уч. завед. 3-4 ур. аккредит., 2004. – Т. 1. – 242 с.
7. Лакин Г. Ф. Биометрия / Г. Ф. Лакин // М. : Высшая школа, 1990. – 352с.
8. Раушенбах И. Ю. 20-гидроксиэксидон взаимодействует с ювенильным гормоном и дофамином в контроле плодовитости *Drosophila virilis* / И. Ю. Раушенбах, Н. Е. Грунтенко, Е. К. Карпова // ДАН. – 2005. – Т. 400. – С. 847-849.
9. Раушенбах И. Ю. Нейроэндокринная регуляция развития насекомых в условиях стресса / И. Ю. Раушенбах – Новосибирск: Наука, 1990. – 160 с.
10. Результати державних приймальних випробувань військового вторинного еталона одиниці потужності електромагнітних коливань у хвильовдних трактах у діапазоні частот від 37, 5 ГГц до 78, 33 ГГц / В. П. Середній, В. І. Огар, Т. М. Голякова [и др.] // Український метрологічний журнал. – 2009. – № 4. – С. 50-55.
11. Четвериков С. С. О некоторых моментах эволюционного процесса с точки зрения современной генетики / С. С. Четвериков // Классики современной генетики. – Л. : Наука, 1968. - С. 133-170.
12. Шейн А. Г. Электромагнитные поля СВЧ низкой интенсивности антропогенного происхождения как один из важнейших экологических факторов современного мира / А. Г. Шейн, Р. Н. Никулин // Процессы и оборудование экологических производств: VI Традиционная науч.-техн. конф. стран СНГ, 2002: Тезисы докл. – Волгоград, 2002. – С. 145 - 149.
13. Шкорбатов Ю. Г. Влияние микроволнового облучения на биологические объекты / Ю. Г. Шкорбатов, В. Г. Шахбазов // Радиофизика и электроника. – 2000. – Т. 5, №1. – С. 179-185.
14. Ati E. The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the development of *Drosophila melanogaster* / E. Ati, H. Unlu // Int. J. Radiat. Biol. – 2006. – V. 82. – №. 6. – P. 435-441.
15. Ayres J. S. A signaling protease required for melanization in *Drosophila* affects resistance and tolerance of infections / J. S. Ayres, D. S. Schneider // PLoS Biol. – 2008. – V. 6. № 12. P. 2764-2773.
16. Cook L. M. Decline of melanism in two British moths: spatial, temporal and inter-specific variation / L. M. Cook, J. R. G. Turner // Heredity. – 2008. – № 101. – P. 483-489.
17. *Drosophila melanogaster* viability and mutability under the influence of low energy microwave monochromatic and ultra wideband impulse field / Y. Shckorbatov, V. Pasuga, L. Shakina [et al.] // 6-th International Conference on Antenna Theory and Techniques: Sevastopol, 17-21 September 2007. – P. 289-291.
18. Influence of the microwave radiation of different polarization state on transinactivation effect and viability of *Drosophila* / Y. G. Shckorbatov, M. V. Evsseva, V. G. Shakhbazov [et al.] // IV International Conference on Antenna Theory and Techniques: Sevastopol, 2003. – V. 2. – P. 823-824.
19. Observations on the effects of low frequency electromagnetic fields on cellular transcription in *Drosophila* larvae reared in field-free conditions / D. R. Tipping, K. E. Chapman, A. J. Birley [et al.] // Bioelectromagnetics. – 1999. – № 20. – P. 129-131.
20. Panagopoulos D. J. Effect of GSM 900-MHz Mobile Phone Radiation on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster* / D. J. Panagopoulos, A. Karabarbounis, L. H. Margaritis // Electromagnetic Biology and Medicine. – 2004. – № 23. – P. 29-43.
21. Pay T. L. A comparative study of microwave radiation and conventional heating on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster* / T. L. Pay, F. A. Andersen, G. L. Jessup // Radiation Research. – 1978. – №76. – P. 271-282.
22. Role of ecdysteroid system in the regulation of *Drosophila* reproduction under environmental stress / I. Y. Rauschenbach, M. Z. Sukhanova, A. Hirashima [et al.] // Doklady Biological Sciences. – 2000. - № 375. – P. 641-643.
23. The influence of microwaves with different state of polarization upon the state of chromatin and viability of *Drosophila* / Y. G. Shckorbatov, S. V. Trofimov, V. G. Shakhbazov [et al.] // The Second International workshop "Ultrawideband and ultrashort impulse signals": Sevastopol, 2004. – P. 246-247.
24. Walters E. Test for the effects of 60 - Hz magnetic fields on fecundity and development in *Drosophila* / E. Walters, E. Carstensen // Bioelectromagnetics. – 1987. № 8. – P. 351-354.
25. Vijg J. Aging of the genome. The dual role of DNA in life and death / J. Vijg // Oxford: Oxford Univ. Press, 2007. – 384 p.

**УДК** 575:57.022:57.042

## **ВПЛИВ ГЕНОТИПУ НА ПРИСТОСОВАНІСТЬ ДРОЗОФІЛИ ПРИ ДІЇ МАЛИХ ДОЗ НАДВИСОКОЧАСТОТНОГО ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ**

**Горенська О. В. , Гаврилов А. Б. , Шкорбатов Ю. Г. , Катрич В. А.**

**Резюме.** У роботі вивчалась дія низькоінтенсивного надвисокочастотного електромагнітного випромінювання на реальну плодючість, життєздатність і пристосованість (відносно ефективності розмноження) у дрозозфіли. Показано, що дія викликає стимулюючий, але залежний від генотипу ефект. Лінія із заміщеним генотипом виявилася стійкішою до дії досліджуваного чинника, ніж лінії Canton-S і black.

**Ключові слова:** надвисокочастотне електромагнітне випромінювання, пристосованість, генотип, дрозозфіла.

**UDC** 575:57.022:57.042

## **INFLUENCE of GENOTYPE on VIABILITY of DROSOPHILA UNDER SMALL DOSES of MICROWAVE RADIATION**

**Gorenskaya O. V. , Gavrilov A. B. , Shkorbatov Y. G. , Katrich V. A.**

**Summary.** Influence of microwaves radiation on real fecundity, viability and fitness (relative efficiency of reproduction) in *Drosophila melanogaster* was studied. It is shown, that influence renders a stimulant, but dependency upon the genotype effect. A line with substituted genotype appeared more steady to the explored influence, what lines of Canton-S and black.

**Key words:** microwave radiation, viability, genotype, drosophila.

*Стаття надійшла 26. 02. 2010 р.*

**УДК** 636.52/.58:611.013:612.017:576.3.

**В. Г. Кузнецова, Г. Ф. Жегунов**

## **ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ЭКСТРАКТОВ ИЗ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ТКАНЕЙ КУР НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ И СЕРДЦЕ КРЫС**

**Харьковская государственная зооветеринарная академия (г. Харьков)**

Данная работа выполнена в рамках темы «Экспериментальное обоснование и разработка методов криоконсервирования клеток и тканей домашних и сельскохозяйственных животных, а также разработка методов получения криоэкстрактов из эмбриональных тканей животных и изучение их биологической активности», № государственной регистрации 0104U009818.

**Вступление.** В настоящее время в ветеринарной практике приобретает все большее значение применение иммуностимуляторов, в частности при лечении и для профилактики хронических и вирусных болезней, а также снятия поствакцинальных реакций организма животных [5]. Остро стоит проблема профилактики и борьбы с массовыми болезнями животных, обусловленными вторичными иммунодефицитами различного

происхождения, широким распространением латентного вирусного носительства, нарушением обменных процессов, ослабляющих иммунный статус организма [6]. Это обуславливает необходимость разработки новых препаратов, обладающих этиотропным противовирусным действием и корректирующих иммунный статус организма [6, 10].

Введение таких препаратов в комплексные схемы антибиотикотерапии значительно влияет на ее эффективность. Так при использовании натрия нуклеата ее эффективность повышается на 40-50% [11], а применение сальмозана в качестве фактора неспецифической защиты организма приводит к увеличению индекса резистентности [5]. Используются иммуностимуляторы бактериальной природы (прогидрозан) [6] и широкий спектр