

УДК 57.044:575.16:546.95

І. Л. Рижко, асп., О. М. Андрієвський, канд. біол. наук, доц.
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова,
кафедра генетики та молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна
E-mail: kira_ril@mail.ru

ЖИТТЕЗДАТНІСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* В УМОВАХ ДІЇ СОЛЕЙ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ

Вивчали зміну деяких показників життєздатності *Drosophila melanogaster* (плодючості, елімінації нащадків, темпу розвитку, стресорезистентності) на тлі впливу солей важких металів. Порівнювали вплив солей металів на дві інбредні лінії дрозофіли — Normal та Меллер-5.

Ключові слова: життєздатність, солі важких металів, дрозофіла.

Проблема забруднення навколишнього середовища з кожним днем стає все гострішою, а важкі метали є однією з причин забруднення. Тому все більше уваги надається проблемі впливу екзогенних факторів (у даному випадку — важких металів) на організм. Ушкоджуюча дія важких металів визначається значною мірою їхньою здатністю змінювати структуру і функції ДНК [1, 2, 3]. У зв'язку з цим викликає інтерес вплив солей важких металів на деякі показники життєздатності та онтогенетичного розвитку модельного об'єкта — дрозофіли.

Солі металів, взяті в різних концентраціях, можуть виявляти як активуючий, так і інгібуючий вплив на плідність і життєздатність організму. Високі концентрації солей важких металів здатні викликати летальний вплив.

Використовуючи лабораторні інбредні лінії *Drosophila melanogaster*, досліджували деякі показники життєздатності мух на тлі токсичної дії солей важких металів. Реальну репродуктивну здатність визначали за кількістю лялечок, що утворилися; відзначали зсув у термінах розвитку личинок, лялечок і імаго в дослідних мікропопуляціях у порівнянні з контрольними, знаходили дози токсичності і летальності для обраних катіонів на різних стадіях онтогенезу.

Таким чином, метою даної роботи було експериментальне вивчення впливу солей важких металів на показники життєздатності *Drosophila melanogaster* в онтогенезі.

Матеріали і методи

Для проведення даної роботи використовували дві інбредні лінії *Drosophila melanogaster* — Normal і Меллер-5, які відрізняються забарвленням тіла й очей (мухи дикого типу — сіре тіло, коричнево-червоні очі, мухи лінії Меллер-5 — жовте тіло, абрикосові очі). Крім

того, X — хромосома мух лінії Меллер-5 містить дві інверсії — sc^8 і δ^{49} , які цілком виключають кросинговер між статевими хромосомами самиць. Обидві інверсії не пов'язані з рецесивною летальною дією [4, 5, 6]. В усіх випадках використовували тільки синхронізований матеріал: личинки, лялечки й імаго 3-денного віку, яких у кожному варіанті експерименту отримували шляхом схрещування 50 самиць з 50 самцями однієї загальної популяції.

Розвиток досліджуваних мікропопуляцій мух проходив на стандартному поживному середовищі з додаванням солей металів, взятих у різних концентраціях [3, 4]. Солі металів (хлористий кадмій, хлористий кобальт, хлористу мідь та сульфатний цинк) у вигляді водного розчину вводили у поживне середовище (в об'ємі 25 мл) одноразово з метою одержання кінцевих концентрацій солей від 0,05 до 2,06 мМ. Контрольні мухи розвивалися на поживному середовищі без додавання солей металів.

Реальну плодючість визначали за кількістю лялечок, що утворилися за тих чи інших індивідуальних умов. Виживаність оцінювали по числу імаго, що вилуплювались із загального числа лялечок. З метою з'ясування ступеня впливу солей важких металів на показники плідності і виживаності дрозофіли приймали кількість лялечок і імаго у контрольних мух за 100 %. У ході роботи визначали зміни в термінах розвитку дослідних популяцій у порівнянні з контрольними, знаходили дози токсичності і летальності для досліджуваних солей металів, що діяли на різних стадіях ембріонального і постембріонального розвитку дрозофіли.

Отримані дані піддавали статистичній обробці [7]. Представлені в роботі рисунки отримували з використанням комп'ютерної програми "Excel".

Результати досліджень та їх аналіз

В ході роботи оцінювали виживаність нащадків за кількістю імаго, що утворилися із загального числа лялечок. Однак в окремих випадках під впливом солей важких металів кількість імаго перевищувала кількість підрахованих лялечок. З'ясувалося, що цей ефект пов'язаний із затримкою розвитку дрозофіли на стадії личинки — лялечки. На час спостереження частина лялечок не була зрілою, а тому не враховувалась, але подальший розвиток їх значно прискорювався, через що кінцева кількість імаго виявлялася більш високою, ніж кількість зареєстрованих лялечок.

Для оцінки дії солей важких металів порівнювали кількість дослідних лялечок і імаго в досліді і контролі, приймаючи кількість лялечок і імаго контролю за 100 %.

У результаті проведених досліджень нами встановлено наступне: сіль $CdCl_2$ викликає асинхронію (одночасно спостерігалися і личинки, і лялечки, і імаго) і затримку на 3 доби у розвитку дрозофіл ліній Normal та Меллер-5. Незначна концентрація солі кадмію у поживно-

му середовищі мух дикого типу (0,06 мМ) приводила до підвищення показників репродуктивної здатності у порівнянні з контролем, однак вже при цій мінімальній концентрації були помітні асинхронія і затримка в розвитку нащадків. Крім того, на тлі підвищення плодючості відзначено зниження показника виживаності дрозофіли. Якщо кількість лялечок була на 24 % вищою, ніж у контрольних варіантах, то кількість імаго — на 44 % нижчою; при цьому виживаність складала лише 43 %, у той час як у контролю — 96 %. З підвищенням концентрації солі в середовищі відзначалося зниження показника плідності і відсотка виживаності нащадків (рис. 1, а).

Необхідно зазначити, що мухи дикого типу виявилися більш стійкими до мінімальних добавок хлористого кадмію у порівнянні з мухами лінії Меллер-5.

Однак, якщо за концентрацій від 0,87 мМ до 1,53 мМ у мутанта (рис. 2, а) ще спостерігалася поява імаго (хоч зі значними затримками розвитку), то для мух дикого типу розвиток нащадків припинявся на поживному середовищі з добавкою солі при концентрації 0,87 мМ на стадії лялечки, а при концентрації 1,1 мМ — навіть на стадії личинки.

При підвищенні концентрації хлористої міді (рис. 2, б) у поживному середовищі від 0,1 мМ відзначалося поступове зниження показника плідності у мутантної лінії Меллер-5 (загибель імаго коливалася в межах від 2 % до 20 %). При концентрації солі 1,24 мМ розвиток мух припинявся на стадії личинки; концентрація 1,44 мМ повністю пригнічувала ембріогенез, однак при концентраціях 1,65; 1,86 і 2,06 мМ знову з'являлися нащадки. За концентрацій 1,65 і 1,86 мМ нащадки проходили всі стадії розвитку, хоч і були відзначені асинхронія і затримка розвитку; при концентрації 2,06 мМ утворювалися тільки личинки, розміри яких були набагато меншими розмірів контрольних личинок. Лялечки за цих умов вже не утворювалися.

Результати, отримані при дослідженні дії солі CuCl_2 на показники життєздатності дрозофіл лінії Normal трохи відрізняються (рис. 1, б). Насамперед слід підкреслити, що в зв'язку з асинхронністю розвитку нащадків кількість імаго в розрахунковий час перевищувала кількість зареєстрованих лялечок. Якщо при концентрації 0,1 мМ показники репродуктивної активності і загибелі імаго приблизно дорівнювали показникам контрольних мух, то концентрації 0,21 і 0,41 мМ викликали різке підвищення показника реальної плідності (загибель імаго коливалася від 0 % до 8 % у залежності від концентрації солі). Подальше підвищення концентрації солі Cu у поживному середовищі викликало поступове зниження плідності (середня загибель імаго складала 0—5 %). При концентрації 1,24 мМ припинявся розвиток мух на стадії лялечки, а при концентрації 1,44 мМ — на стадії яйця. Як і у випадку лінії Меллер-5, за концентрації 1,65 мМ знову спостерігалася поява потомства, яке проходило всі стадії розвитку, однак при концентрації 1,86 мМ всі мухи гинули.

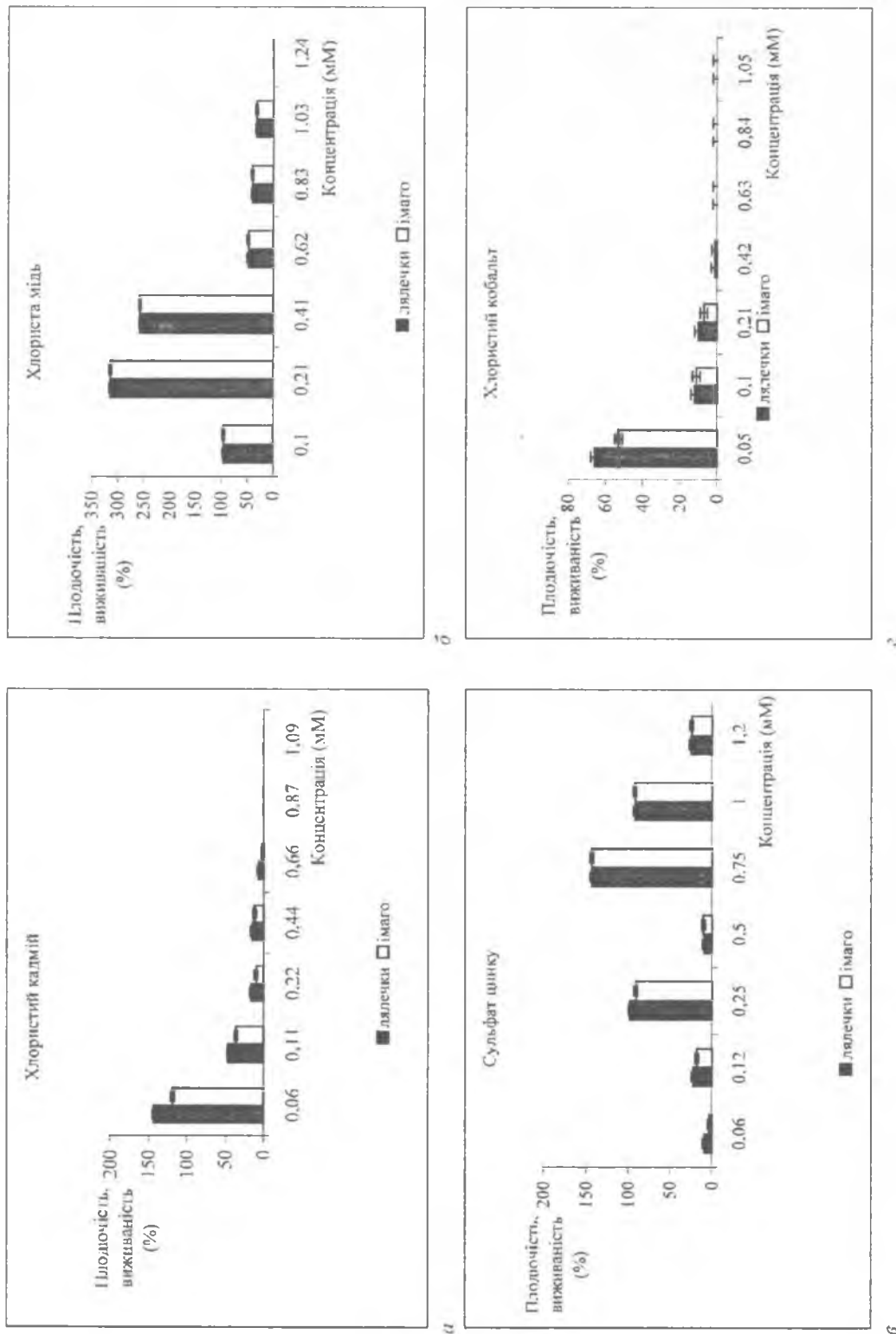
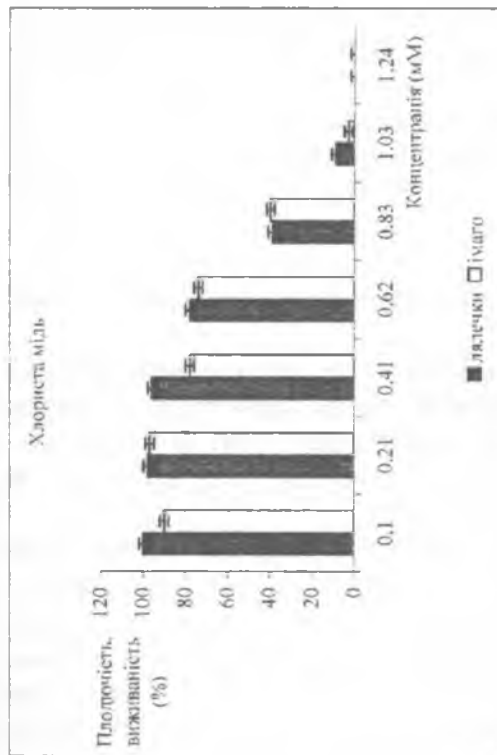
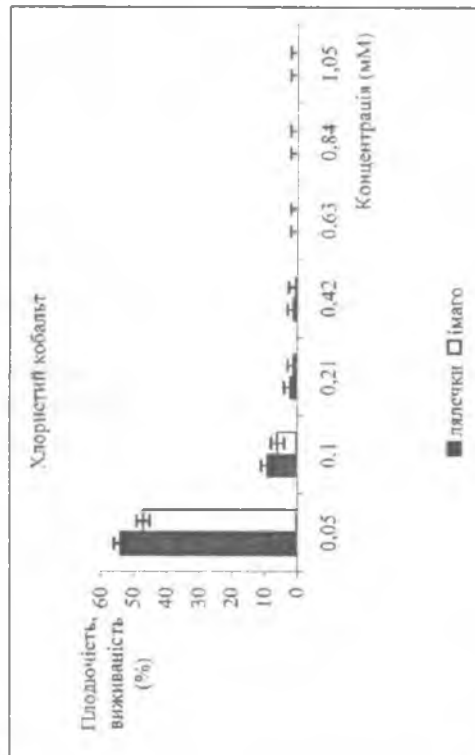


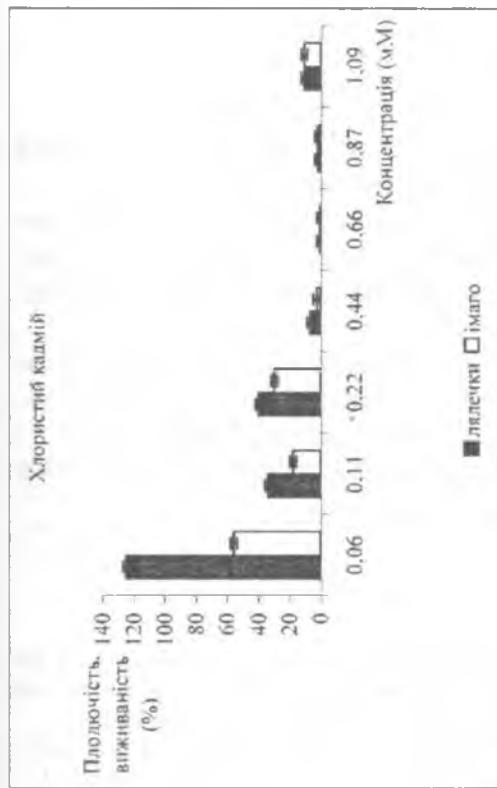
Рис. 1. Реальна плодючість та виживаність мух лінії Normal під впливом солей важких металів



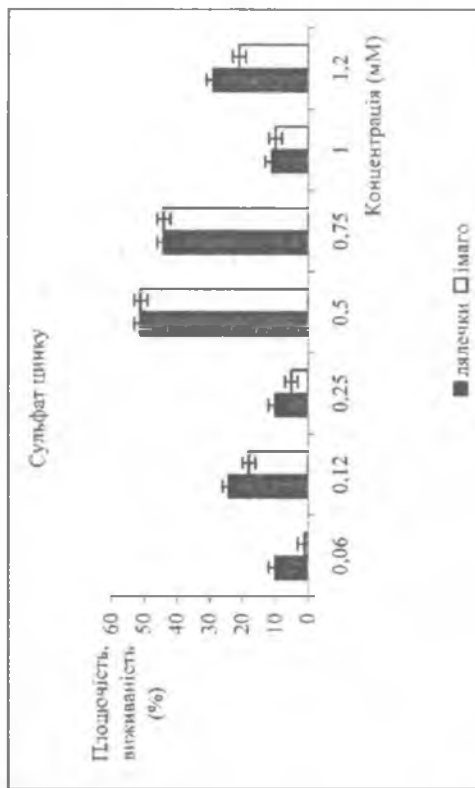
б



в



а



в

Рис. 2. Реальна плодючість та виживаність мух лінії Меллер-5 під впливом солей важких металів

Додання сульфату Zn у поживне середовище призводило до пригнічення плідності мух лінії Меллер-5, причому за концентрацій від 0,06 до 0,25 мМ ефект гноблення виявлявся сильнішим, ніж за концентрацій 0,5, 0,75 і 1,2 мМ. Загибель імаго складала від 4 % до 90 % у залежності від концентрації солі в кормі (рис. 2, в).

При доданні $ZnSO_4$ у поживне середовище мух лінії Normal (рис. 1, в) спостерігали пригнічення плідності (як і у випадку лінії Меллер-5). Однак за концентрації 0,75 мМ кількість лялечок на 35 %, а імаго — на 43 % була вищою, ніж у контролі. Загибель імаго коливалася в залежності від концентрації хімічних агентів в межах від 8 % до 67 %.

Сіль хлористого кобальту викликає затримку й асинхронію розвитку ліній Normal (рис. 1, з) і Меллер-5 (рис. 2, з), а, крім того, впливає на плідність дрозофіли. З підвищенням концентрації солі в поживному середовищі цей ефект підсилюється. Концентрація солі кобальту в кормі 0,6 мМ є летальною для мух обох ліній.

В роботі використовували хлориди (хлористий кадмій, хлористий кобальт, хлористу мідь), за виключенням сульфату цинку. Всі зазначені метали є двовалентними, молекулярні маси солей досить близькі, тому ми припускаємо, що за зміну показників життєдіяльності відповідальні саме катіони. Доказом цього може слугувати те, що при мінімальній концентрації солі у поживному середовищі (0,05 мМ) показники плодючості та виживаності дрозофіли змінювалися по-різному для досліджуваних солей.

Висновки

1. Солі важких металів справляють токсичний вплив на живий організм (починаючи з концентрації 0,05 мМ).
2. Солі кадмію та міді в невеликих концентраціях можуть приводити до підвищення показника плідності, в той час як сіль кобальту навіть при низькому вмісті у середовищі виявляє гнітучий вплив на цей показник.
3. З підвищенням концентрації всі солі важких металів викликають спочатку зниження життєздатності дрозофіли, а при подальшому підвищенні концентрації справляють летальний вплив.
4. Зміну показників життєдіяльності дрозофіли спричиняють іони важких металів.

Література

1. Тоцький В. М., Гандірук Н. Г., Ланцман І. В. Життєздатність і частота кросинговеру на ділянці b-сп хромосоми 2 у *Drosophila melanogaster* за вмісту солей важких металів у поживному середовищі // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — С. 75—80.
2. Бигалиев А. Б. Генетический эффект солей тяжелых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. — 1982. — Вип. 10. — С. 104—114.

3. Андрієвський О. М., Рижко І. Л., Радіонов О. О. Фізіолого-біохімічні показники в онтогенезі дрозофіли за впливу солей металів // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8. — Вип. 1. — С. 9—18.
4. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 294 с.
5. Тоцький В. М. Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 710 с.
6. Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле. / Под редакцией В. В. Хвостовой. — Новосибирск.: Наука, 1977. — 278 с.
7. Плехинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: Изд.-во МГУ, 1980. — 150 с.

И. Л. Рыжко, А. М. Андриевский

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина
E-mail: kira_ril@mail.ru

**ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ DROSOPHILA MELANOGASTER
В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ**

Резюме

Изучали изменение некоторых показателей жизнеспособности *Drosophila melanogaster* (плодовитости, элиминации потомства, темпа развития, стрессорезистентности) на фоне воздействия солей тяжелых металлов. Сравнивали воздействие солей металлов на две инбредные линии дрозофилы — Normal и Меллер-5.

Ключевые слова: жизнеспособность, соли тяжелых металлов, дрозофила.

I. L. Ryzhko, A. M. Andrievsky

Odessa National I. I. Mechnikov University,
Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St., 2, Odessa, 65026, Ukraine
E-mail: kira_ril@mail.ru

**VITABILITY OF DROSOPHILA MELANOGASTER IN CONDITIONS
OF THE HEAVY METALS SALTS ACTION**

Summary

The change of some vital functional factors of *Drosophila melanogaster* (vitability, posterity elimination, rate of development, stress tolerance) on the background of the influence of the heavy metals salts has been studied. The influence of the metals salts on two inbreeding lines of drosophila — Normal and Meller-5 has been compared.

Keywords: vitability, salts of heavy metals, drosophila.