

УДК 577.222:595

Н. Г. Гандірук, канд. біол. наук, доц., В. М. Тоцький, д-р. біол. наук, проф., зав. каф., І. В. Ланцман, студ.

Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики і молекулярної біології,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

ЧАСТОТА МЕЙОТИЧНОЇ РЕКОМБІНАЦІЇ НА ДІЛЯНЦІ CN — VG ХРОМОСОМИ 2 *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ДІЇ РТУТІ НА ОРГАНІЗМ

Вивчена залежність накопичення ртуті у тканинах та частота кросинговеру на ділянці *cn-vg* хромосоми 2 дрозофіли від вмісту сульфату ртуті у поживному середовищі. Виявлено максимально допустиме накопичення ртуті у тканинах мух, за якого можливий їх розвиток. За годування мух на протязі одного покоління кормом з сульфатом ртуті у концентрації 0,1 мМ суттєво зменшується їх плодючість і виникає статистично достовірне підвищення частоти кросинговеру.

Ключові слова: дрозофіла, кросинговер, накопичення ртуті, плодючість.

Серед важких металів, забруднюючих довкілля, особливої уваги заслуговує генотоксична дія ртуті. Це пояснюється, з однієї сторони, поширеністю цього забруднювача у природі [1], з іншої — його високою генотоксичністю [2]. Показано, що ртуть є сильним мутагеном, який індукує хромосомні аберації, анеуплоїдії і поліплоїдії у рослин, тварин і людини [3]. Ртуть чи її етилхлорид гранозан за їх наявності у кормі дрозофіли викликають домінуючі летальні мутації в гаметах [4]. Проте поза увагою залишилося розуміння дії ртуті на інший тип спадкової мінливості — комбінаційну. Одним із джерел комбінаційної мінливості є мейотична рекомбінація. Остання призводить до змін генного балансу, що може негативно позначатися на життєздатності нащадків [5]. З іншого боку, зміни генного балансу є обов'язковою умовою формування генотипової адаптації, яка досягається шляхом добору генотипів з адаптаційними [6, 7] та коадаптованими [8] комплексами генів, що забезпечують пристосованість організмів до певних умов довкілля [9]. Вважається, що частота кросинговеру в значній мірі визначає швидкість зміни генофонду популяцій, а, отже, ефективність еволюційного процесу [10].

Метою даного дослідження було вивчення накопичення ртуті в організмі *D. melanogaster*, а також змін плодючості та частоти мейотичної рекомбінації на ділянці *cn-vg* у дрозофіли в залежності від вмісту іонів ртуті у поживному середовищі.

Матеріали і методи

Для вивчення генотоксичної дії ртуті на організм дрозофіли використовували мух дикого типу Canton S, мутантів по локусах *cinnabar* і *vestigial*, а також подвійних мутантів за цими ж локусами (*cn*, *vg*). Експериментально визначили ту максимально допустиму концентрацію сульфату ртуті у поживному середовищі, яка не подавляє розвиток дрозофіли і становить 0,1 мМ. Мух утримували на поживних середовищах з сульфатом ртуті у цій та у десять і сто разів менших концентраціях протягом усього їх життєвого циклу. Таким чином, піддослідні самки, на відміну від контрольних, знаходились у період мейотичного поділу їх оогоній і можливого кросинговеру на поживних середовищах, що містить ртуть у кінцевих концентраціях 0,001, 0,01 та 0,1 мМ. Для визначення вмісту ртуті у тканинах використовували чутливий спектрофотометричний метод, який дозволяє визначати сліди ртуті у біологічних об'єктах. В основі методу лежить утворення комплексних сполук іонів ртуті з дитизоном та поглинання ними світла з довжиною хвилі 500 нм. До гомогенату наважки 50 мг мух у 2 мл 0,1 М ацетатного буфера рН 5,0 добавляли 2 мл 1 %-ного розчину ЕДТА. Екстракцію іонів ртуті провадили 0,001%-ним розчином дитизону у CCl_4 . Органічну фракцію використовували для спектрофотометрії. Концентрацію ртуті вираховували за побудованою калібрувальною кривою. Частоту кросинговеру визначали по числу особин рекомбінантних класів, отриманих в аналізуючому схрещуванні дигетерозигот за маркерними генами *cn*, *vg* і виражали в процентах від загальної кількості нащадків [11].

Отримання дигетерозигот, постановку аналізуючого схрещування та облік кросоверних класів здійснювали за загальноприйнятими схемами [11, 12]. Плодючість мух визначали як кількість лялечкових паріїв у потомстві однієї самки, що відкладала яйця протягом трьох діб.

Результати дослідження та їх аналіз

Виявлено, що у імаго дрозофіли покоління F_1 , яке розвивалося на поживному середовищі з сульфатом ртуті, остання накопичується в організмі (табл. 1). Ступінь накопичення ртуті у тканинах дрозофіли істотно залежить від її концентрації у поживному середовищі.

Відомо, що вміст ртуті у тваринному чи людському організмі складає від 0,002 до 0,02 мг % на сиру вагу різних органів тіла [14,15], а вміст ртуті у поверхневих шарах ґрунту становить 0,14—1 мг/кг (0,005—0,03 мМ) [1]. Нами встановлено, що за концентрації ртуті у кормі 0,001 мМ її вміст у тканинах мух дикого типу C-S становить 0,017 мг %. Отже, за незначних концентрацій ртуті у поживному середовищі її рівень в організмі дрозофіли не перевищує фізіологічну норму. Збільшення кількості ртуті у кормі в десять разів (до 0,01 мМ) призводить до збільшення її вмісту в тканинах мух у 1,3—2,2 рази, залежно від генотипу. Слід відмітити, що зазначений рівень

ртуті в організмі дрозофіли істотно не впливає на досліджувані показники плодючості та мейотичної рекомбінації (табл. 2).

Таблиця 1
Вміст ртуті у тканинах різних ліній дрозофіли за наявності сульфату ртуті у поживному середовищі, мг %

Концентрація ртуті у середовищі, мМ	Досліджувані лінії		
	C - S	cn	vg
0,001	0,017± 0,002	0,012 ±0,002	0,034 ± 0,003
0,01	0,024 ± 0,002	0,016 ±0,002	0,077 ±0,012
0,1	0,181 ±0,021*	0,117 ±0,020*	0,210 ±0,029*

Примітка: * — різниця достовірна порівняно з мінімальною концентрацією

Таблиця 2
Залежність частоти кросинговеру на ділянці cn-vg хромосоми 2 дрозофіли та її плодючості від вмісту ртуті у поживному середовищі

Концентрація ртуті у середовищі, мМ	Частота кросинговеру		Плодючість мух	
	сМ	% відхилення від контролю	Число нащадків	% відхилення від контролю
Контроль	9,40 ±1,41	-	94,6 ±8.1	-
0,001	9,91 ±1,19	5,4	82,7 ± 6,6	-12,6
0,01	10,89 ±1,29	15,8	101,0 ±5,7	+6,7
0,1	13,25 ±1,14*	40,9	56,6 ± 4,5 *	-40,2

Примітка: * — різниця достовірна порівняно з контролем

Хронічне надходження ртуті в організм дорослих мух за вмісту її у кормі в концентраціях 0,1 мМ призводить до значного накопичення сполук ртуті у тканинах дрозофіли. Ця концентрація ртуті у поживному середовищі є максимальною, за якої можливий розвиток мух, оскільки подальше збільшення ртуті у поживному, середовищі призводить до їх загибелі. За цієї максимально допустимої концентрації ртуті у поживному середовищі вміст ртуті в тканинах мух підвищується в залежності від їх генотипу у 6,1—10,5 разів.

Таким чином, можна зробити висновок, що ртуть разом з селеном, цезієм, берилієм, свинцем та іншими ультрамікроелементами входить до складу живих організмів у дуже незначних кількостях. Однак вміст ртуті в тканинах організму не постійний і може значно змінюватися під впливом факторів довкілля, накопичуючись до токсичного рівня. Токсичність ртуті в умовах наших дослідів проявлялася змен-

шенням плодючості мух на 40,2% порівняно з контрольними мухами, яких утримували на поживному середовищі без ртуті. Отримані дані співпадають з результатами [4], які свідчать про те, що відповідні концентрації ртуті у поживному середовищі здатні індукувати домінантні летальні мутації у дрозофіли. Нами виявлено, що максимально допустима концентрація ртуті у поживному середовищі призводить до зростання частоти кросинговеру на ділянці *cn-vg* хромосоми 2 дрозофіли на 40,9% порівняно з контролем.

Механізм підвищення частоти кросинговеру ртуттю не з'ясований, але відомо [3, 4], що ртуть безпосередньо ушкоджує ДНК, призводячи як до точкових мутацій, так і до хромосомних аберацій, зокрема хромосомних та хроматидних розривів. Саме такі ушкодження ДНК можуть сприяти підвищенню частоти кросинговеру.

Таким чином, враховуючи поширення у природі цього токсиканту (міститься у технічних матеріалах, неочищеній нафті і т. п.), останній може призводити до підвищення не тільки мутаційної, але й комбінаційної мінливості організмів і тим самим сприяти добору певних, пристосованих до забруднення ртуттю, генотипів. У повній відповідності з цим припущенням в літературі є дані про наявність добору у ссавців на один із ферментів енергетичного обміну — фосфогліцеромутазу, високочутливу до появи ртуті у середовищі [16].

Висновки

1. Встановлено генотипові особливості накопичення іонів ртуті в тканинах різних ліній дрозофіли в залежності від їх концентрації у поживному середовищі.
2. За максимально допустимої концентрації ртуті у поживному середовищі значно зменшується плодючість, але підвищується мейотична рекомбінація у мух.

Література

1. *Биологическая роль микроэлементов.* / Под редакцией Ковальского В. В., Воротницкой И. Е. — М.: Наука, 1983. — 238 с.
2. *Маркарян Д. С.* Вопросы гигиенического нормирования при изучении отдаленных последствий воздействия промышленных веществ. — М.: Медицина, 1972. — С. 24—40.
3. *Бигалиев А. Б.* Генетический эффект солей тяжелых металлов как загрязнителей окружающей среды // Успехи современной генетики. — 1982. — Вып. 10. — С. 104—114.
4. *Лекьявичус Р. К.* Химический мутагенез и загрязнение окружающей среды. — Вильнюс: Мокслас, 1983. — 223 с.
5. *Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Тоцький В. Н., Блажнова Е. В.* Частота рекомбинаций как показатель генного баланса и приспособленности дрозофилы // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8, випуск 1. — С. 86—91.
6. *Алшибли Н. М., Хаустова Н. Д., Тоцький В. Н.* Частота рекомбинаций на участке *b-cn-vg* хромосоми 2 *Drosophila melanogaster* в зависимости от генотипа и возраста мух // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, випуск 1. — С. 45—50.
7. *Тоцький В. Н., Хаустова Н. Д., Гандірук Н. Г.* Генный баланс и адаптация природных и искусственно созданных генотипов *Drosophila melanogaster* // Труды по фундамент. и приклад. генетике — Харьков: Штрих, 2001. — С. 140—151.

8. Тоцкий В. Н., Хаустова Н. Д., Алшибли Н. М., Сечняк А. Л. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 69—75.
9. Жученко А. А., Король А. Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. — М.: Мир, 1989. — 105 с.
10. Жученко А. А., Король А. Б. Увеличение частоты кроссинговера в популяции при отборе на устойчивость к температурным колебаниям // Докл. Акад. наук СССР. — 1983. — Т. 273, № 3. — С. 721—725.
11. Тоцький В. М., Гандірук Н. Г., Ланцман І. В. Життєздатність і частота кроссинговеру на ділянці b-сп хромосоми 2 у *Drosophila melanogaster* за вмісту солей важких металів у поживному середовищі // Вісник ОНУ. — 2003. — Т. 8, випуск 1. — С. 75—80.
12. Медведев Н. Н. Практическая генетика. — М.: Наука, 1968. — 293 с.
13. Тоцький В. М. Генетика. — Одеса: Астропринт, 2002. — 710 с.
14. Войнар А. О. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. — М.: Наука, 1960. — 282 с.
15. Ковальский В. В. Микроэлементы в жизни растений и животных. — М.: Наука, 1952. — С. 30—42.
16. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э., Хилл Р., Ломан И. Основы биохимии. — М.: Мир, 1981. — С. 572—574.

Н. Г. Гандирук, В. Н. Тоцкий, И. В. Ланцман

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова, кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

ЧАСТОТА МЕЙОТИЧЕСКОЙ РЕКОМБИНАЦИИ НА УЧАСТКЕ CN-VG ХРОМОСОМЫ 2 DROSOPHILA MELANOGASTER ПРИ ДЕЙСТВИИ РТУТИ НА ОРГАНИЗМ

Резюме

Изучена зависимость накопления ртути в тканях и частота кроссинговера на участке *cn-vg* хромосомы 2 дрозофилы от содержания сульфата ртути в питательной среде. Установлено максимально допустимое накопление ртути в тканях мух, при котором еще возможно их развитие. Питание мух на протяжении одного поколения кормом с сульфатом ртути в концентрации 0,1 мМ существенно снижает их плодовитость и достоверно повышает частоту кроссинговера на участке *cn-vg*.

Ключевые слова: дрозофила, кроссинговер, накопление ртути, плодовитость.

N. G. Gandiruk, V. N. Totskiy, I. V. Lantsman

Odessa National University, Department of Genetics and Molecular Biology,
Dvoryanskaya St. 2, Odessa, 65026, Ukraine

FREQUENCY OF MEYOTICAL RECOMBINATION IN THE SECTION CN-VG CHROMOSOME 2 OF DROSOPHILA MELANOGASTER UNDER THE INFLUENCE OF MERCURY ON THE ORGANISM

Summary

The dependency of accumulation of mercury in tissues and frequency of recombinations in the section *cn-vg* chromosome 2 of *Drosophila* with the content of

hydrargirum sulphate in the nutrient medium has been studied. The most admissible accumulation of mercury in the tissues permitting drosophila development has been established.

Nutrition of flies with fodder keeping sulphate of mercury in concentration of 0,1 mM for period of one generation lowers essentially their fertility, but the and frequency of crossingover raises for sure.

Keywords: drosophila, crossingover, accumulation of mercury, fertility.