

## ДЕЯКІ ОНТОГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ВПЛИВУ ФІЗИЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПОКАЗНИКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ У *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Актуальність досліджень біологічних ефектів різних режимів електромагнітного опромінення зумовлена їх широким розповсюдженням у повсякденному житті людини та використанням у медичній практиці [1]. Поряд із цим відомо, що цей чинник може бути також шкідливим для людини. Так, згідно з даними Міжнародної агенції по вивченню раку, дуже низькочастотні магнітні поля, можливо, є канцерогенними для людини (група 2В). Статичні електричні і магнітні поля і вкрай низькочастотні електричні поля не класифікуються як канцерогенні для людини (група 3) [2]. У наших попередніх дослідженнях було продемонстровано, що електромагнітні опромінення різних режимів можуть викликати значні зміни у життєздатності дрозофіли [3, 4], показано ефекти цих факторів щодо структурної організації ядер клітин букального епітелію людини [5, 6]. Проте питання безпечного застосування електромагнітного випромінювання у повсякденному житті та терапевтичній практиці вимагає подальшого дослідження його біологічних ефектів. Суттєве значення при цьому має виявлення різних онтогенетичних аспектів дії цього чинника.

Метою даної роботи було вивчення наслідків короткочасної дії випромінювання надзвичайно високої частоти (НЗВЧ), магнітного поля (МП) та їх комбінацій (НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ на передембріональних (тобто при формуванні гамет) та ранніх ембріональних стадіях розвитку та показники життєздатності (швидкість розвитку, кількість дорослих нащадків та частоту порушень розвитку у *Drosophila melanogaster*).

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на лінії *Canton-S* (дикий тип) *D. melanogaster*, яку підтримували в культурі шляхом тісного інбридингу протягом більш ніж 80 поколінь. Мух вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому середовищі при температурі  $23 \pm 0,5$  °С.

Для отримання опромінення НЗВЧ із заданими характеристиками (частота 36,64 ГГц, щіль-

ність міцності на рівні об'єкту  $120 \pm 0,05$  мкВт/см<sup>2</sup>) використовували генератор, який був створений на кафедрі теоретичної радіофізики ХНУ ім. В. Н. Каразіна. Відстань до об'єкта, що опромінюється, — 15 см, експозиція — 30 секунд. Експозиція у МП 25 мТл — 5 хв. Відповідно до поставленої в роботі мети задавали п'ять варіантів досліду: контроль, НЗВЧ, МП, НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ.

Задля вивчення наслідків дії фізичних факторів на передембріональні стадії розвитку опроміненню піддавали мух, які були зібрані у перші 3 години після їх вильоту з лялечок. У цей час, як відомо, імаго дрозофіли ще не здатні до продуктивного парування і переважна кількість гамет у їх статевих шляхах є недозрілою [7].

Задля вивчення наслідків дії фізичних факторів на ранніх стадіях ембріогенезу отримували 1-годинні синхронізовані кладки яєць від триденних імаго. В кожній з цих кладок аналізували швидкість розвитку, шляхом підрахування імаго, що вилуплюються з лялечок кожні три години. Плодючість імаго оцінювали за кількістю дорослих нащадків.

Ставили тільки індивідуальні схрещування. З метою аналізу дії фізичних факторів на динаміку змін показників життєздатності нащадків батьків, що старіють, від кожної пари батьківських особин було отримано шість послідовних кладок. Кожна з цих кладок відповідала певному віку батьків і була отримана шляхом пересадки мух кожні дві доби на свіже поживне середовище.

Оцінку життєздатності нащадків на преімагінальних стадіях розвитку проводили за допомогою двох показників: частоти нерозвинених яєць і кількості особин, що загинули на стадії лялечки. Оцінку першого з них проводили за стандартним методом обліку домінуючих летальних мутацій (ДЛМ) в ембріогенезі [8]. При цьому схрещування ставили безпосередньо після піддавання опроміненню відповідно до варіанту досліду. Мух утримували на тимчасовому поживному середовищі, яке поновлювали кожну добу. Таким чином отримували кладки, що відповідали

певному віку батьків. Облік нерозвинених яєць проводили через 48 год. інкубації ( $24 \pm 0,5$  °C) за наступними критеріями: білі яйця — ранні леталі (перші 6–9 годин ембріонального розвитку); жовті та коричневі — пізні леталі [8, 9]. Визначали у відсотках співвідношення яєць, що не розвилися, до загальної кількості яєць. Загибель особин на ляльковій стадії оцінювали за відсотком загиблих лялечок від загальної кількості лялечок. Отримані дані оброблені загальноприйнятими методами варіаційної статистики з використанням критерію Ст'юдента.

### Результати та обговорення

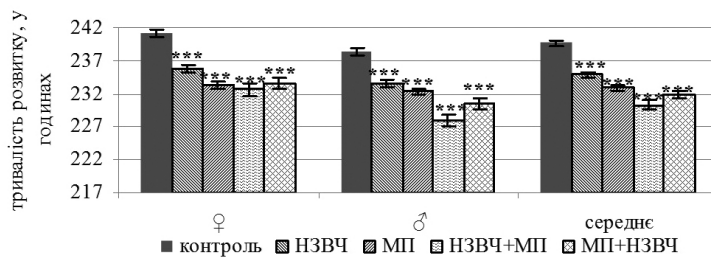
Проведене дослідження дозволило встановити ефект прискорення темпів онтогенезу дрозофіли при дії фізичних факторів (НЗВЧ, МП, НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ) у період раннього ембріогенезу (рис. 1). Найбільш значне скорочення розвитку порівняно з контролем спостерігали у варіантах НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ на 9,4 ( $p < 0,001$ ) та 7,7 ( $p < 0,001$ ) год., відповідно. У варіантах НЗВЧ та МП ці відмінності складають відповідно 4,8 ( $p < 0,001$ ); 6,8 ( $p < 0,001$ ) год. При цьому тривалість розвитку самців була коротшою ніж самиць: у варіантах НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ — на 4,7 ( $p < 0,001$ ) та 3,0 ( $p < 0,01$ ); у НЗВЧ та контролі на 2,1 ( $p < 0,05$ ) та 2,8 ( $p < 0,01$ )

год., відповідно. При дії МП швидкість розвитку самиць і самців була майже однакова.

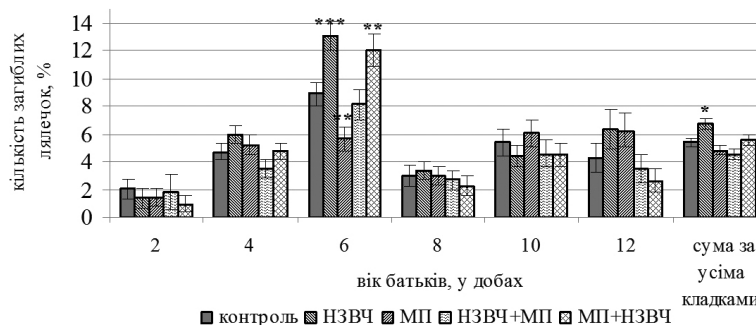
Проте поряд зі встановленими ефектами дії фізичних факторів на швидкість розвитку статистично значущих відмінностей між варіантами досліду за плодючістю імаго, яких піддавали дії цих факторів в ранньому ембріогенезі, не виявлено. Характер вікових змін цього показника був майже однаковий у контролі і при дії фізичних факторів, що вивчаються.

Аналіз кількості загиблих лялечок в різних варіантах експерименту виявив негативний характер впливу НЗВЧ в ранньому ембріогенезі батьків на життєздатність їх нащадків (рис. 2). Загальна кількість порушень на ляльковій стадії за усіма кладками у варіанті НЗВЧ перевищувала контрольні значення на 1,33% ( $p < 0,05$ ). Найбільшу чутливість до дії фізичних факторів у ембріогенезі батьків виявлено у нащадків 6-дібних батьків: у варіантах НЗВЧ та МП+НЗВЧ збільшення лялькової смертності (на 4,14% ( $p < 0,001$ ) та 3,14% ( $p < 0,01$ ), відповідно), але поряд з цим зменшення показника на 3,22% ( $p < 0,01$ ) під впливом МП.

З метою вивчення наслідків дії фізичних факторів на статеві клітини, що знаходяться на різних стадіях свого формування, у другій частині експериментів дії фізичних факторів піддава-



**Рис. 1.** Вплив фізичних факторів у ранньому ембріогенезі на швидкість розвитку в лінії *Canton-S Drosophila melanogaster*. Тут і далі: \* — рівень статистичної значущості порівняно з контролем  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$



**Рис. 2.** Вплив фізичних факторів у ранньому ембріогенезі батьків на кількість порушень розвитку нащадків на ляльковій стадії в лінії *Canton-S D. melanogaster*

ли мух, які були зібрані у перші 3 години після їх вильоту з лялечок, перед паруванням [7]. При цьому виходили з припущення, що за характером змін показників життєздатності у послідовних кладках, які були отримані від цих мух, можна виявити найбільш чуттєві до електромагнітного опромінення стадії гаметогенезу.

У ході цього дослідження встановлено, що у варіанті МП плодючість 4-дібних імаго перевищує контрольні значення на 39,1% ( $p < 0,01$ ), а 12-дібних — на 91,9% ( $p > 0,05$ ) (рис. 3). Плодючість 2-дібних батьків у варіантах НЗВЧ+МП і МП+НЗВЧ більш ніж у три рази перевищує контроль ( $p < 0,05$ ), тоді як у 10-дібних батьків спостерігали протилежний ефект — зниження показника на 50 і 55% ( $p < 0,05$ ), відповідно. Протилежність ефектів цих режимів опромінення на плодючість в різних кладках є можливою причиною відсутності відмінностей за даним показником між варіантами НЗВЧ+МП, МП+НЗВЧ та контролем за сумарними даними в усіх послідовних кладках. Достовірних відмінностей за плодючістю від контролю у варіанті НЗВЧ не виявлено.

Фізичні фактори, що були застосовані у роботі при впливі на імаго, тобто МП та НЗВЧ та МП у різних комбінаціях, викликали порушення

розвитку у нащадків. Встановлено, що з режимів електромагнітного опромінення, що вивчаються в даній роботі, найбільш шкідливий вплив на ембріональний розвиток дрозофіли спричиняє комбінована дія НЗВЧ+МП та МП+НЗВЧ (рис. 4). В кладках, в яких вік батьків склав 5, 6, 7, 10 та 11 діб (тобто у більшості отриманих кладок), кількість нерозвинених яєць в цих варіантах на статистично значущому рівні перевищує контрольні значення. Негативний ефект на ембріональний розвиток нащадків батьків, що старіють, здійснює також МП. Так, хоча в кладці, що була отримана від 4-дібних батьків, кількість ДЛМ у варіанті МП була на 3% ( $p < 0,05$ ) менше ніж у контролі, в кладках старіших батьків (за винятком 9-дібних) значення цього показника у варіанті МП на статистично значущому рівні перевищують контрольні. Об'єднання даних за усіма послідовними кладками показало наступне. Режим опромінення МП+НЗВЧ батьків здійснює найбільш суттєвий негативний вплив на ембріогенез нащадків — кількість ДЛМ в цьому варіанті на 6,58% ( $p < 0,001$ ) більше ніж у контролі. Варіанти МП та НЗВЧ+МП за кількістю цих порушень перевищують контрольні значення, відповідно на 2,43 і 2,42% ( $p < 0,01$ ). У цілому, НЗВЧ менш впливає на ДЛМ, ніж МП, ста-

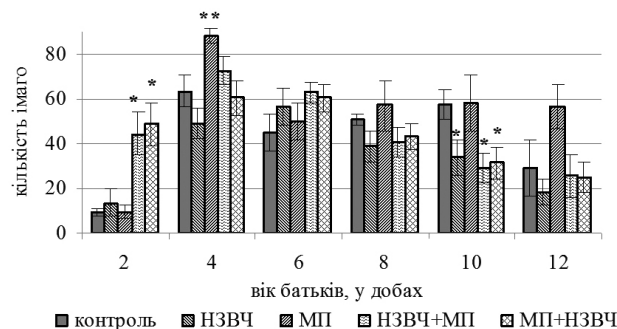


Рис. 3. Вікові зміни плодючості імаго, яких піддавали дії фізичних факторів в лінії *Canton-S D. melanogaster*

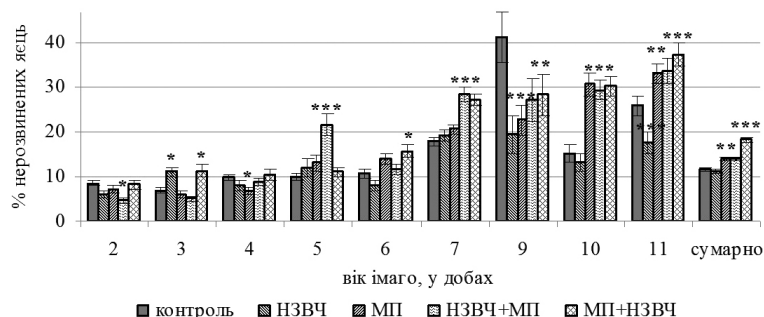
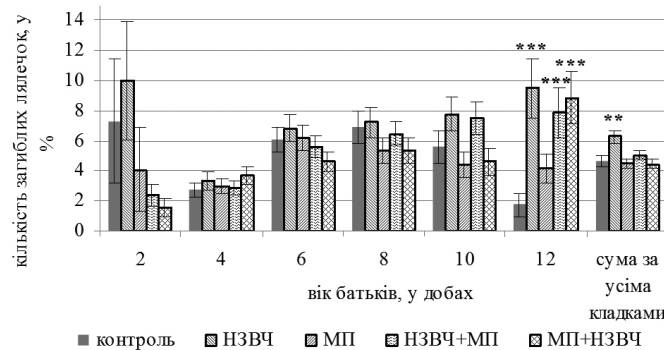


Рис. 4. Вплив обробки фізичними факторами імаго дрозофіли на вікові зміни частоти нерозвинених яєць у їх потомстві в лінії *Canton-S D. melanogaster*



**Рис. 5.** Вплив обробки імаго фізичними факторами на частоту порушень розвитку їх нащадків на лялькових стадіях в лінії *Canton-S D. melanogaster*

тистично значущого впливу НЗВЧ на загальну кількість ДЛМ у нащадків у всіх кладках, окрім нащадків батьків і віці 3 доби, 9 та 11 діб, не виявлено.

У той же час аналіз кількості порушень на лялькових стадіях розвитку дрозозфіли залежно від дії фізичних факторів, у нащадків батьків, що старіють, виявив негативний вплив НЗВЧ-опромінення на життєздатність (рис. 5). Достовірного впливу самого МП та у комбінаціях з НЗВЧ не виявлено. Об'єднання даних за усіма послідовними кладками показало, що у цьому варіанті кількість загинувших лялечок на 1,61% ( $p < 0,01$ ) вище, ніж у контрольному. Особливо чутливим до НЗВЧ опромінення є ляльковий розвиток нащадків батьків 10–12-дібного віку (рис. 5).

Отже, отримані у даній роботі дані про прискорення розвитку дрозозфіли під впливом МП та НЗВЧ добре погоджуються з результатами роботи [11], у якій показано прискорення розвитку дрозозфіли під впливом опромінення НЗВЧ з частотою 10 ГГц, та роботи [12], де показано ефект зниження плодючості дрозозфіли під впливом опромінення НЗВЧ з частотою 10 ГГц.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Bassett A. C. L. Beneficial effects of electromagnetic fields // *J. Cell. Biochem.* — 1993. — 51, № 4. — P. 387–393.
2. Non-ionizing radiation, part 1: static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields // *IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans.* — 2002. — 80. — P. 338.
3. Shckorbatov Y. G., Evseeva M. V., Shakhbazov V. G., Popov A. I., Cheshko T. M., Grabina V. A., Fisun A. I., Belous O. I. Transvection effect and viability of *Drosophila* under the influence of the microwave radiation // *MSMW'04 Symposium Proceedings.* — Kharkiv, 2004. — P. 879–880.
4. Shckorbatov Y. G., Pasiuga V. N., Shakina L. A., Grabina V. A., Kolchigin N. N., Ivanchenko D. D., Kazansky O. V., Bykov V. N. *Drosophila melanogaster* viability and mutability under the influence of low energy microwave monochromatic and ultra wideband impulse field // *6-th International Conference on Antenna Theory and Techniques (ICATT'07).* — Sevastopol, 2007. — P. 289–291.
5. Shckorbatov Y. G., Trofimov S. V., Shakhbazov V. G., Grabina V. A., Gorobets N. N. The influence of microwaves with different state of polarization upon the state of chromatin and viability of *Drosophila* // *The Second International Workshop «Ultrawideband and ultrashort impulse signals» (UWBUSIS'04).* — Sevastopol, 2004. — P. 246–247.

6. Shckorbatov Y.G., Zhuravleva L.A., Navrotskaya V.V., Miroshnichenko E.V., Montvid P.Y., Shakhbazov V.G., Sutushev T.A. Chromatin structure and the state of human organism // Cell Biol. Internat. — 2005. — 29. — P. 77–81.
7. Проблемы генетики в исследованиях на дрозофиле / Под ред. В.В. Хвостовой, Л.И. Корочкина, М.Д. Голубовского. — Новосибирск: Наука, 1977. — 277 с.
8. Тихомирова М. М. Генетический анализ: Учебное пособие. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1990. — 280 с.
9. Soller M., Bownes M., Kubli E. Control of oocyte maturation in sexually mature *Drosophila* females // Devel. Biol. — 1999. — 208. — P. 337–351.
10. Markow T.A. «Cost» of virginity in wild *Drosophila melanogaster* females // Ecology and Evolution. — 2011. — 1. — P. 596–600.
11. Atli E., Ünlü H. The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the development of *Drosophila melanogaster* // International journal of radiation biology. — 2006. — 82. — P. 435–441.
12. Atli E., Ünlü H. The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the fecundity of *Drosophila melanogaster* // Turkish Journal of Biology. — 2007. — 31. — P. 1–5.

**GRACHEVA M.A., CHESHKO T.M., SHCKORBATOV Y.G.**

*Kharkov National University,*

*Ukraine, 61022, Kharkov, Svoboda sq., 4, e-mail: rarog70@mail.ru*

#### **SOME ONTOGENIC ASPECTS OF THE INFLUENCE OF PHYSICAL FACTORS ON VIABILITY OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

**Aim.** The aim of this work was to study the effects of electromagnetic factors at preembryonic and embryonic stages on viability of aging parents' progeny in *Drosophila*. The influence of microwave irradiation (MW,  $f = 36,64$  GHz, surface power density at the level of the object —  $120 \pm 0,05$  mW/cm<sup>2</sup>; 15 cm from antenna edge; exposure time — 30 s), magnetic field (MF; 25mT; exposure time 5 min) and their combinations (MW+MF and MF+MW) on rate of development; fecundity, embryonic and pupal lethality in *Drosophila melanogaster* stock *Canton-S* was investigated. **Methods.** The methods of recording of quantitative traits (rate of development; fecundity, embryonic and pupal lethality) and variation statistics were used. **Results.** The exposure to physical factors at embryonic stages the increase of *Drosophila* rate development was shown. MW also induced increasing pupal lethality being applied at embryonic stages. The MW+MF and MF+MW exposure of young flies raised embryonic lethality in progeny of the oldest parents. Exposure of imagoes to MW only resulted in increasing of pupal lethality of progeny. **Conclusions.** Electromagnetic factors that have been studied in this work significantly modify the viability of *Drosophila*. These effects depend on both developmental stage at which the irradiation was applied and on parental age.

**Keywords:** electromagnetic irradiation, developmental stage, viability, *Drosophila*.