

... ГЕНЕТИКА ... GENETICS ...

УДК: 575.21:57.042

Анализ репродукции и преімагінальної смертності у *Drosophila melanogaster* при действии микроволнового излучения

О.В. Горенская, Д.В. Рыбак, Н.В. Рыбак, Г.Г. Горенский, Ю.Г. Шкорбатов

Новый вид антропогенного влияния – низкоинтенсивное электромагнитное излучение демонстрирует многообразие генетических эффектов. Особый интерес представляют вопросы формирования адаптивного ответа организмов при кратковременном воздействии крайневисокочастотного излучения в зависимости от генотипа особей. Целью данной работы был анализ плодовитости и преімагінальної смертності *Drosophila melanogaster* в зависимости от возраста родителей при действии микроволнового излучения. Использовали линии дрозофилы, несущие мутацию *white^{apicot}*, но различающиеся генетическим фоном, на котором находится эта мутация: *w^a(C-S)*, *w^a(Or)* и *w^a*. В работе облучали виргинных имаго, параметры внешнего воздействия – мощность $W=10$ мкВт/см², частота $F=65$ ГГц, экспозиция $t=5$ минут. Анализировали стадии гибели эмбрионов, количество потомков имаго и гибель особей на стадии куколки. Результаты исследования показали, что действие электромагнитного облучения на виргинных имаго дрозофил с нарушенным метаболизмом триптофана модифицирует выживаемость потомства на преімагінальних етапах онтогенеза. В потомстве молодых особей (3–8-суточных имаго) снижается частота эмбриональной смертности в период 0–5,5 часов (начальные стадии дробления и образования бластодермы) и 5,5–17 часов (стадия гаструляции и сегментации эмбриона, гистогенез). Общее количество потомков имаго не отличается от контрольных значений, уровень смертности на стадии куколки также не меняется в потомстве молодых родителей после действия ЭМИ КВЧ. Увеличение возраста родительских пар, которые подверглись кратковременному воздействию ЭМИ КВЧ в первые сутки после выхода имаго (20–25 суток), приводит к снижению частоты эмбриональной смертности потомков в период от 17 до 22 часов эмбриогенеза (стадия органогенеза и выход личинки из хориона). Суммарная частота эмбриональной смертности определяется исключительно возрастом родителей. Сила влияния этого фактора для линий составляет, соответственно, $h^2_{w^a}=69,7\%$, $h^2_{w^a(C-S)}=52,2\%$ и $h^2_{w^a(Or)}=64,9\%$. Действие ЭМИ КВЧ влияет на частоту эмбриональной смертности только у линии *w^a(Or)* ($h^2_{ЭМИ КВЧ}=18,3\%$). Внешнее воздействие не приводит к изменению количества потомков имаго у особей в возрасте 0–5 суток, а в потомстве 20–25-суточных особей у линии *w^a(C-S)* показатель увеличился в 1,2 раза. Показано снижение количества погибших особей на стадии куколки в потомстве 20–25-суточных родителей после действия ЭМИ КВЧ в среднем в три раза.

Ключевые слова: КВЧ, дрозофила, преімагінальная смертность, количество потомков имаго, возраст имаго.

Об авторах:

О.В. Горенская – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, olgavg2014@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0028-2522>

Д.В. Рыбак – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, dasharyback@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7107-5937>

Н.В. Рыбак – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, liya.miller.31@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5088-6020>

Г.Г. Горенский – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, gorenskiyg@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0002-0035-2239>

Ю.Г. Шкорбатов – Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, Украина, 61022, yuriy.shkorbatov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3315-0932>

Введение

В начале 20-го века появился новый тип антропогенного излучения – электромагнитное, используемое, в основном, для передачи информации (телевидение, мобильная связь, Wi-Fi и т.п.). Это излучение не может напрямую разрушать химические связи, как ионизирующее, но является, как показывают недавние исследования, причинами возникновения тяжелых иммунных заболеваний (Johansson, 2009), а также лейкемии у детей (Blackman et al., 2007). Говорить о безопасности даже низкоинтенсивного электромагнитного излучения уже нельзя. Поэтому очень актуальны на сегодня вопросы, касающиеся механизмов адаптации организмов к этому внешнему воздействию и особенностей проявлений пролонгированных эффектов. Не выясненными остаются

вопросы, связанные с формированием комплекса адаптивно важных признаков при действии нового стрессового фактора в зависимости от генотипа особей.

Адаптацию к условиям существования связывают, в первую очередь, со способностью особей оставить жизнеспособное потомство. Многочисленными исследованиями в экспериментах на дрозофиле показано, что действие микроволнового излучения приводит к изменению репродуктивной способности имаго, но полученные результаты существенно отличаются, в зависимости от диапазона длин волн, стадии онтогенеза дрозофилы, которая подвергалась внешнему воздействию, мощности и продолжительности облучения, а также других условий эксперимента. Так, в работе (Atli, Ünlü, 2007) у линии дикого типа *Oregon* показано снижение средней плодовитости и увеличение длительности предимагинального развития по сравнению с контролем при облучении самок с частотой 10 ГГц в течение четырёх и пяти часов. Частота рецессивных летальных мутаций у потомков мух после облучения не отличалась от контроля (Memmi, Ünlü, 2007). В нашей работе было показано увеличение плодовитости имаго дрозофилы с нарушенным синтезом бета-аланина, которые развивались из яиц, облученных микроволнами с частотой 37,7 ГГц и плотностью потока энергии 10 мкВт/см² и 100 мкВт/см² (Горенская и др., 2010). Кратковременное воздействие микроволнового излучения на виргинных имаго этих же линий увеличивает продолжительность предимагинального развития и снижает устойчивость имаго к голоданию (Горенская и др., 2016).

Анализ механизма действия электромагнитных полей показал множество генетических эффектов. Так, может нарушаться скорость репликации ДНК (Harvey, French, 2000); могут возникать изменения в конформации гетерохроматина в лимфоцитах здоровых людей (Markova et al., 2005). Показано ингибирование процессов репарации ДНК при действии микроволнового излучения на лимфоциты (Markova et al., 2005). В экспериментах на дрозофиле обнаружен эффект гормезиса по частоте доминантных летальных мутаций в первом поколении при действии плотности мощности 1 Вт/м² (Дика та ін., 2016). Установлено снижение уровня транскрипционной активности генов, который авторы оценивали по степени пуфирования политенных хромосом (Shakina et al., 2011). Использование в качестве источника облучения телевизионных станций и сетей Wi-Fi, даже при очень низких уровнях интенсивности, приводило к снижению плодовитости и индукции апоптоза клеток фолликулов дрозофилы (Margaritis et al., 2014; Sagioglou et al., 2016). Наиболее чувствительными к внешнему воздействию стадиями развития организма являются гаметогенез и эмбриогенез. Некоторые авторы (Margaritis et al., 2014) полагают, что оогенез дрозофилы можно использовать как биомаркёр при изучении биологического действия ЭМП.

Таким образом, работы многих авторов демонстрируют многообразие генетических эффектов низкоинтенсивного электромагнитного излучения, зачастую противоречивых, что недостаточно для понимания механизмов процесса. И особый интерес представляют вопросы формирования адаптивного ответа организмов при кратковременном воздействии крайневисокочастотного излучения (ЭМИ КВЧ) в зависимости от генотипа особей. Так, установлено участие метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана в ответах на стресс у дрозофилы (иммобилизационный стресс, тепловой шок) (Журавлев и др., 2020). Но открытым остается вопрос о механизмах приспособленности особей с нарушением метаболизма триптофана при действии микроволнового излучения.

Целью данной работы был анализ плодовитости и предимагинальной смертности особей *Drosophila melanogaster*, несущих мутацию *white^{apricot}*, в зависимости от возраста родителей при действии микроволнового излучения.

Объекты и методы исследования

В работе использовались линии *Drosophila melanogaster* Meig., несущие мутацию *white^{apricot}*. Линии отличались генетическим фоном, на котором находилась данная мутация: *w^a(C-S)*, *w^a(Or)* и *w^a*, соответственно, мутация *white^{apricot}* была перенесена на генетический фон линий дикого типа *Canton-S (C-S)* и *Oregon-R (Or)*. Мухи взяты из коллекции линий *Drosophila* кафедры генетики и цитологии Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина, которая является Национальным достоянием Украины.

Мух выращивали на стандартной сахарно-дрожжевой среде при температуре 22°C. Виргинных имаго разделяли по полу и содержали отдельно на протяжении трёх и двадцати суток, пересаживая на новую среду каждые трое суток. Внешнему воздействию в опыте подвергались суточные имаго. Облучение проводили с использованием оборудования, входящего в состав вторичного военного

образца единиц мощности электромагнитных колебаний в волноводных трактах в диапазоне частот 37,5–78,33 ГГц (ВВЕТУ 09-04-01-08). Эталон находится в метрологическом центре военных стандартов Вооруженных Сил Украины. Облучение суточных виргинных имаго проводилось в пробирках с временной средой через вату. Определялся коэффициент поглощения ваты, значение мощности облучения устанавливалось с учетом этого значения. Параметры итогового влияния – мощность $W=10$ мкВт/см², частота $F=65$ ГГц, экспозиция $t=5$ минут.

В работе анализировали выживаемость особей на разных этапах онтогенеза при действии микроволнового излучения в зависимости от возраста родителей. Для определения частоты эмбриональной смертности (ЭС) получали синхронизированные кладки от 3- и 20-суточных самок в чашках Петри с временной средой. Для оценки изменений, возникающих в гаметах имаго, анализировали неразвившиеся яйца по методу (Hill, 1945). Учитывали эмбрионов *D. melanogaster*, остановившихся в развитии 0–5,5 часов (стадия I – начальные стадии дробления и образования бластодермы), 5,5–17 часов (стадия II – стадия гастрюляции и сегментации эмбриона, гистогенез) и 17–22 часов (стадия III – стадия органогенеза и выход личинки из хориона). Всего в эксперименте было проанализированы яйцекладки от 700 самок дрозофил (контроль) и около 800 самок в опытной группе.

Для анализа репродукции определяли количество потомков имаго от двух пар родительских особей в возрасте 3–8 суток и 20–25 суток. Параллельно учитывали количество особей, погибших на стадии куколки. Проанализировано потомство от около 250 пар родительских особей.

Для каждого варианта эксперимента при изучении репродукции рассчитывали среднее арифметическое значение и ошибку среднего. Результаты анализа показателей гибели особей на стадии куколки и эмбриональной смертности представлены в виде долей со статистическими ошибками. Статистическую значимость отличий контрольных и опытных значений оценивали при помощи *F*-критерия. Для оценки силы влияния контролируемых в работе факторов на изучаемые показатели применяли дисперсионный анализ качественных признаков, силу влияния факторов (h_x^2) оценивали по методу М.Снедекора (Атраментова, Утевська, 2007). Проверку нулевых гипотез проводили на уровне значимости 0,05.

Результаты и обсуждение

Результаты работы по изучению суммарной частоты ЭС у линий дрозофилы, несущих мутацию w^a , в зависимости от влияния ЭМИ КВЧ и возраста родителей показаны на рис. 1.

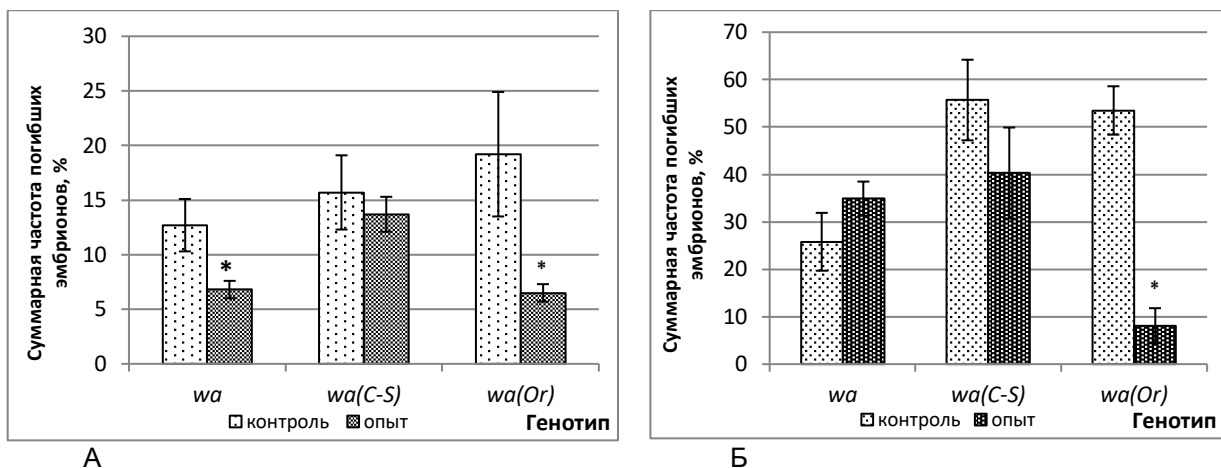


Рис. 1. Суммарная частота эмбриональной смертности у линий дрозофилы с нарушенным метаболизмом триптофана, в зависимости от действия ЭМИ КВЧ: А – потомство от 3-суточных имаго; Б – потомство от 20-суточных имаго

* – значимость отличий от контроля $p < 0,05$.

Результаты проведенной работы показали, что в контроле, с увеличением возраста родителей, частота эмбриональной смертности повышается в среднем в 2,5 раза у линий дрозофилы, которые использовались в эксперименте. Эта закономерность подтверждается и

данными литературы (Некрасова и др., 2000; Костенко и др., 2015). В нашей работе частота ЭС определяется возрастом родителей $F=29,2$ и генотипом $F=7,64$. Сила влияния факторов составляет соответственно $h^2_{возр.родит}=33,9\%$, $h^2_{генотип}=12,0\%$. Сочетанное действие факторов, которые контролировались в работе, – генотип и возраст родителей – не влияет на частоту ЭС.

Действие ЭМИ КВЧ сопровождается снижением частоты ЭС у 3-суточных имаго в 1,9 раз в линии w^a и в 2,9 раза в линии $w^a(Or)$. У линии $w^a(C-S)$ обнаружена только тенденция к снижению данного показателя у молодых родителей (рис. 1, А). С увеличением возраста родителей (рис. 1, Б) эта закономерность сохраняется у линии $w^a(Or)$, где частота ЭС уменьшилась практически в шесть раз. Показано, что частота ЭС (результаты двухфакторного дисперсионного анализа) определяется возрастом родителей. Сила влияния этого фактора для линий составляет, соответственно, $h^2_{w^a}=69,7\%$, $h^2_{w^a(C-S)}=52,2\%$ и $h^2_{w^a(Or)}=64,9\%$. Действие ЭМИ КВЧ влияет на частоту ЭС только у линии $w^a(Or)$ ($h^2_{ЭМИ\ КВЧ}=18,3\%$). Сочетанное действие факторов, которые контролировались в работе, – внешнее воздействие и возраст родителей – не влияет на частоту эмбриональной смертности.

Результаты анализа стадий развития эмбрионов дрозофилы, на которых произошла остановка развития, в потомстве 3-суточных родителей при действии микроволнового излучения показан на рис. 2.

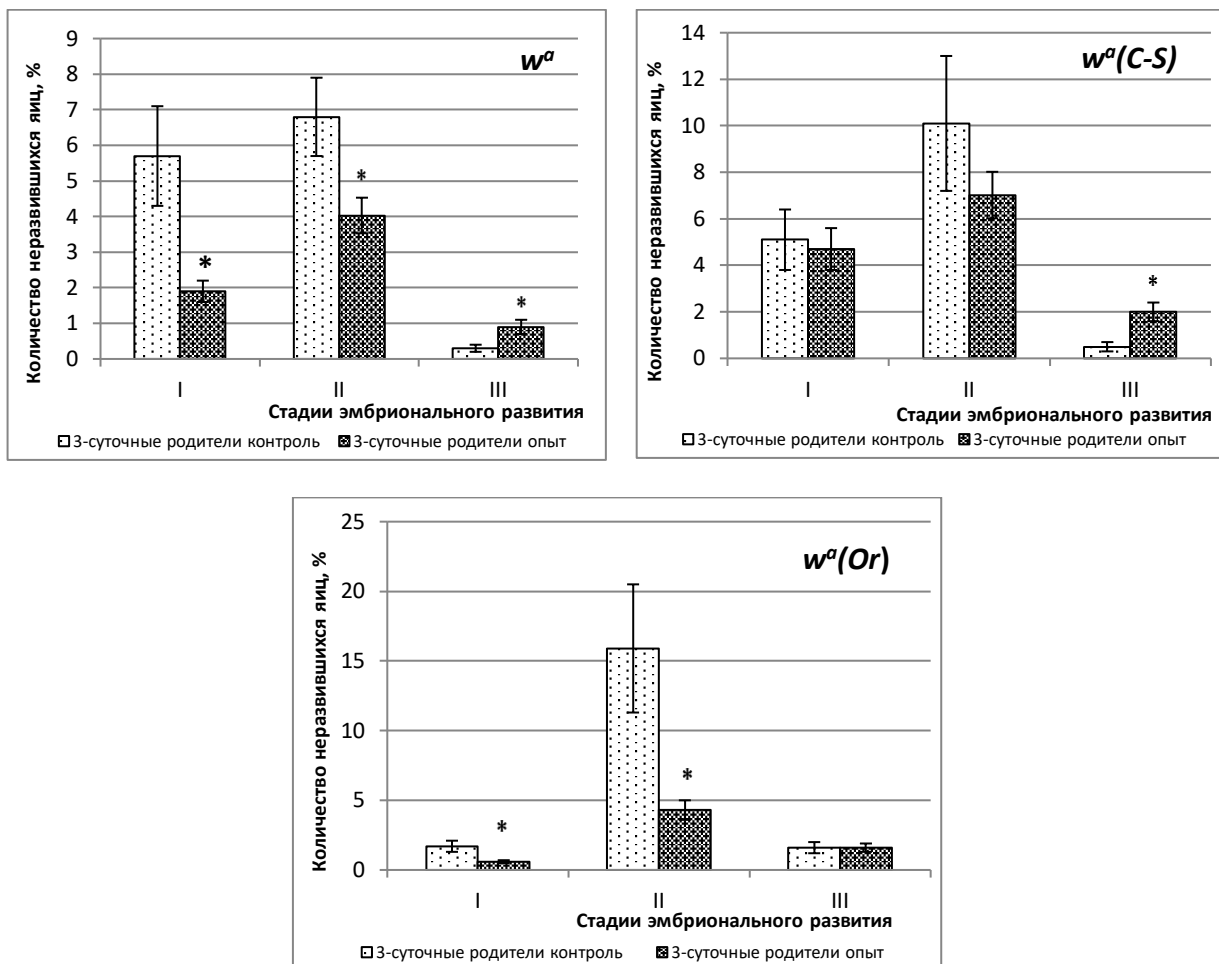


Рис. 2. Эмбриональная гибель потомства у 3-суточных имаго дрозофилы с нарушенным метаболизмом триптофана при действии ЭМИ КВЧ. I – начальные стадии дробления и образования бластодермы, II – стадия гастрюляции и сегментации эмбриона, III – стадия органогенеза.

* – значимость отличий от контроля $p < 0,05$.

Результати експериментів показали, що в потомстві молодих родителів (трёхсуточних имаго) в лініях w^a і $w^a(Or)$ після зовнішнього впливу зменшується кількість ембріонів, погібших на ранніх стадіях розвитку (в віці 0–17 годин розвитку), і збільшується кількість ембріонів, погібших на пізніх стадіях розвитку (17–22 год) (лінії w^a і $w^a(C-S)$). Так, для лінії w^a зменшення сумарної частоти ЕС визначається зменшенням смертності на 66,7 % і 40,7 % для стадій I і II відповідно і збільшенням смертності в 3 рази на стадії III після дії ЕМІ КВЧ. У лінії $w^a(Or)$ зменшення сумарної частоти ЕС визначається зменшенням кількості погібших ембріонів на 64,7 % і 72,9 % на стадіях I і II відповідно після дії ЕМІ КВЧ.

Результати аналізу ембріональної смертності в потомстві 20-суточних имаго дрозофіли після дії мікрохвильового випромінювання показані на рис. 3.

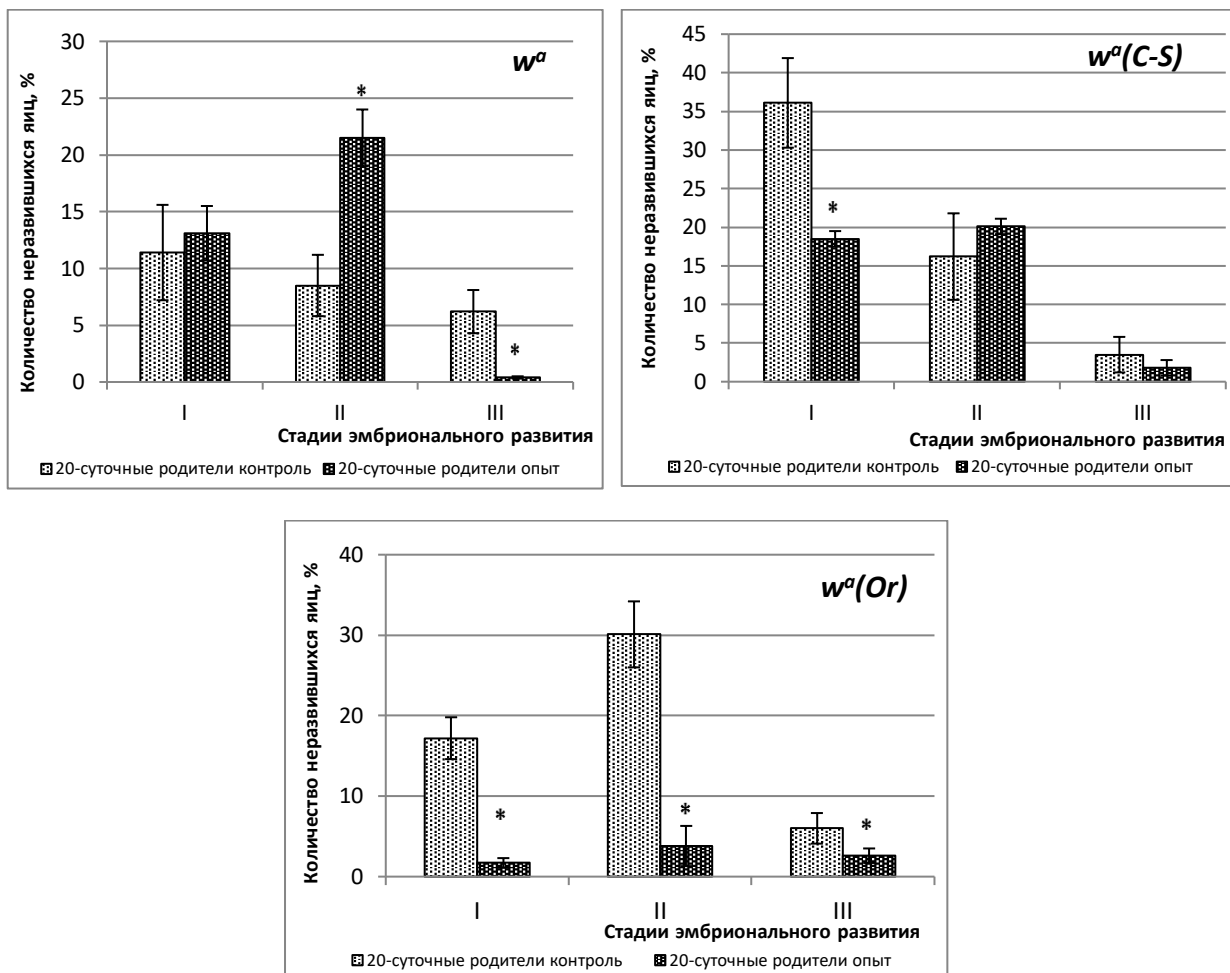


Рис. 3. Ембріональна гибель потомства у 20-суточных имаго дрозофіли с нарушенным метаболизмом триптофана при действии ЭМИ КВЧ. I – начальные стадии дробления и образования бластодермы, II – стадия гаструляции и сегментации эмбриона, III – стадия органогенеза.

* – значимость отличий от контроля $p < 0,05$.

Увеличение частоты ЕС с возрастом родителей, которое показано на рис. 1, происходит за счет возрастания количества остановившихся в развитии эмбрионов на всех этапах онтогенеза. При этом на стадии III (17–22 часа развития) эмбриональная смертность возрастает в среднем в 10,4 раза. На более ранних стадиях наиболее выражены изменения у линий с замещенным генотипом. Количество эмбрионов, погібших в течение первых пяти с половиной часов развития, повысилась

в 7,1 и 10,1 раз (соответственно для линий $w^a(C-S)$ и $w^a(Or)$), количество эмбрионов, которые остановились в развитии в последующие 5,5–17 часов развития, – в 1,6 и 1,9 раза (соответственно для линий $w^a(C-S)$ и $w^a(Or)$).

В потомстве 20-суточных имаго дрозофилы после внешнего воздействия снижается количество погибших эмбрионов на поздних стадиях развития (в возрасте 17–22 часов) примерно в 2 раза в линии $w^a(Or)$ и в 14 раз в линии w^a . Что касается ранних стадий эмбриогенеза, то изменения их вклада в общую эмбриональную смертность после воздействия ЭМИ КВЧ разнонаправленные, в зависимости от генотипа особей.

Результаты эксперимента показали, что количество потомков имаго от 3–8-суточных мух не изменяется после воздействия ЭМИ КВЧ на родительских особей (рис. 4, А).

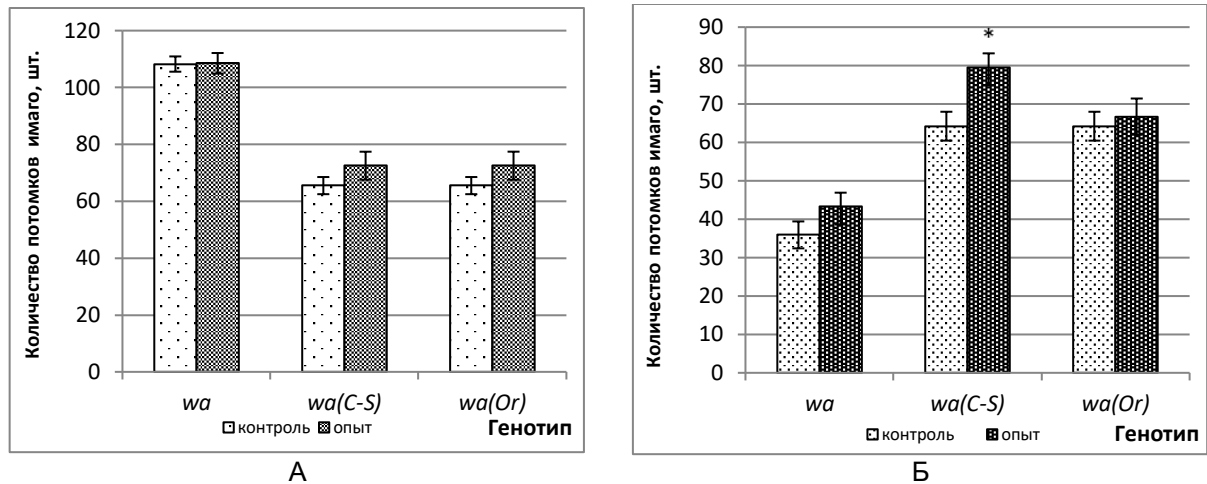


Рис. 4. Количество имаго от 3–8-суточных (А) и 20–25-суточных (Б) особей дрозофилы при действии ЭМИ КВЧ

* – значимость отличий от контроля $p < 0,05$.

Для имаго линии $w^a(C-S)$ в возрасте 20–25 суток количество имаго в потомстве повышается при действии ЭМИ КВЧ на виргинных особей приблизительно в 1,2 раза (рис. 4, Б). На этот показатель влияет генотип ($F=39,6$) и возраст родительских особей ($F=26,5$).

Количество особей, погибших на стадии куколки, не изменяется по сравнению с контролем в потомстве имаго в возрасте 3–8 суток после действия облучения на виргинных мух (рис. 5, А).

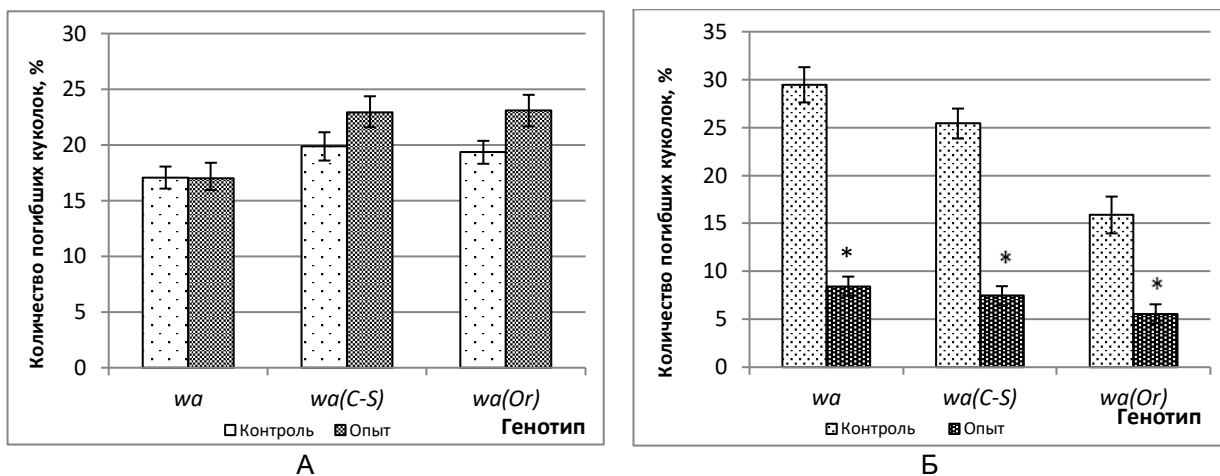


Рис. 5. Количество погибших куколок в потомстве 3–8-суточных (А) и 20–25-суточных (Б) имаго дрозофилы при действии ЭМИ КВЧ

* – значимость отличий от контроля $p < 0,05$.

Однако в потомстве особей в возрасте 20–25 суток после действия ЭМИ КВЧ наблюдается протекторный эффект – количество особей, погибших на стадии куколки, снижается приблизительно в три раза у всех линий, которые использовались в работе (рис. 5, Б).

Таким образом, действие электромагнитного облучения на виргинных имаго дрозофил с нарушенным метаболизмом триптофана модифицирует выживаемость потомства на предимагинальных стадиях онтогенеза. В потомстве молодых особей (возраст имаго 3–8 суток) снижается частота эмбриональной смертности в период 0–5,5 часов (начальные стадии дробления и образования бластодермы) и 5,5–17 часов (стадия гастрюляции и сегментации эмбриона, гистогенез) эмбриогенеза. При этом общее количество потомков имаго не отличается от контрольных значений, уровень смертности на стадии куколки также не меняется.

Увеличение возраста родительских пар, которые подверглись кратковременному воздействию ЭМИ КВЧ в первые сутки выхода имаго, до 20–25 суток приводит к снижению частоты эмбриональной смертности потомков в период от 17 до 22 часов эмбриогенеза (стадия органогенеза и выход личинки из хориона). Количество потомков имаго не изменяется у особей в возрасте 0–5 суток, подвергшихся воздействию; в потомстве особей в возрасте 20–25 суток у линии $w^a(C-S)$ показатель увеличился в 1,2 раза. Показано снижение количества погибших особей на стадии куколки в потомстве 20–25-суточных родителей после действия ЭМИ КВЧ в среднем в три раза.

Гаметогенез и эмбриогенез являются самыми чувствительными к внешнему воздействию стадиями развития организма. Стрессовые факторы различной природы могут вызвать изменения в гаметях или нарушать процесс гаметогенеза. При этом эффект от действия внешних факторов определяется стадией развития половых клеток, которые подверглись воздействию. Так, хорошо известно, что у млекопитающих ранние эмбриональные стадии развития более чувствительны к ионизирующей радиации, чем последующие (Panagopoulos, 2012). Аналогично оогонии и сперматогонии более чувствительны к ионизирующему излучению, чем ооциты и зрелые сперматозоиды на поздних стадиях гаметогенеза. Показано, что повреждение половых клеток-предшественников может привести к стерильности животного. Таким образом, репродуктивные клетки, из которых будет развиваться будущий организм, более чувствительны к внешним воздействиям, чем другие типы клеток. Это связано, как предполагается, с тем, что репродуктивные клетки претерпевают множественные биологические процессы, такие как митотические и мейотические деления, синтезируют все виды биомолекул и т.д. Соответственно, внешнее воздействие может изменить репродуктивную способность организмов, если оно нарушает (или модифицирует) протекание гаметогенеза.

Известно, что с возрастом снижается общая устойчивость организмов к действию как физических, так и химических факторов внешней среды. В экспериментах на дрозофиле показано, что с увеличением возраста родителей повышается частота доминантных летальных мутаций (Некрасова и др., 2000; Костенко и др., 2015). Но с возрастом у организмов развивается и способность противостоять факторам внешней среды. В основе этого процесса лежит процесс, который позволяет сделать выбор альтернативных путей метаболизма. Один из механизмов старения у дрозофилы, как и других существ, например млекопитающих, базируется на процессах, которые приводят к регуляторным эпигенетическим изменениям, влияющим на экспрессию генов (повреждение промоторов генов, деметилирование ДНК и гистонов, компенсаторный ферментативный стресс-ответ). В целом эти эпигенетические процессы предшествуют возрастным проявлениям, связанным с нарушениями функций организма (Adler et al., 2013; Averous et al., 2003). В нашей работе показано стимулирующее действие ЭМИ КВЧ, которое выражается в снижении эмбриональной смертности у дрозофилы. Эффект выражен сильнее в потомстве молодых родителей. Как показано в работе (Дика та ін., 2016), влияние микроволнового излучения на самцов имаго с частотой 36,64 ГГц и плотностью мощности 0,01; 0,1 и 1 Вт/м² оставляет яйцепродукцию самок на уровне контроля. В работах (Panagopoulos, Margaritis, 2003; Panagopoulos et al., 2004) показано, что у самок *Drosophila melanogaster*, которых подвергали воздействию электромагнитного поля с частотой 50 Гц на протяжении нескольких часов в периоды раннего и среднего гаметогенеза, происходит элиминация большинства половых клеток и, как следствие, снижается плодовитость имаго.

Снижение репродуктивной способности – один из фенотипов старения. У дрозофилы в одном из экспериментов по изучению возрастной динамики транскрипционной активности выявлено 43 гена, активность которых с возрастом увеличивается, и 89 генов, экспрессия которых снижается. Показано снижение с возрастом уровня РНК нескольких генов репродукции, среди которых 2 гена

акцессорных белков семейства Аср. Белки Аср самца облегчают сохранение спермы в семяприемниках самки и стимулируют отложение яиц, уменьшая продолжительность ее жизни. С увеличением возраста имаго дрозофил снижается экспрессия так называемых генов гаметогебеза, например, показано снижение количества белка из семейства септин, который участвует в сперматогенезе. Эти изменения могут способствовать эмбриональной гибели, а также уменьшать количество жизнеспособных личинок и куколок в постэмбриональном периоде (Drummond-Barbosa, Spradling, 2001; Vermeulen, Loeschke, 2007). Экспериментально показано, что облучение яиц, личинок и куколок по одному часу в течение 10 дней приводит к активации генов теплового шока, как неспецифического ответа на стрессовый фактор. При этом, как оказалась, клетки проявляют большую чувствительность к ЭМИ КВЧ, чем к тепловому воздействию (Weisbrot et al., 2003). Можно предположить, что белки теплового шока, которые синтезируются в ответ на внешнее воздействие, также могут обуславливать проявление полученных эффектов.

Все линии, использованные в работе, несли мутацию w^a , которая возникла в результате встраивания мобильного элемента *copia* (подкласс LTR-ретротранспозоны) в локус гена *white*. Эта вставка приводит к нарушению функции гена. Ген *white*⁺ кодирует трансмембранный ABC-транспортёр, который осуществляет захват и перенос гуанина и триптофана. Поскольку гуанин требуется для синтеза дофамина и серотонина, а триптофан является предшественником серотонина, у мутантов изменены уровни и распределение этих нейромедиаторов. Кинуренины обладают широким спектром нейротропных эффектов у позвоночных и беспозвоночных животных (Журавлев и др., 2020). У линий дрозофилы с мутациями, нарушающими кинурениновый путь обмена триптофана, наблюдается ряд физиологических и поведенческих изменений. В целом, метаболиты кинуренинового пути обмена триптофана оказывают активирующее действие на ЦНС и поведенческие процессы (Журавлев и др., 2020).

Ранее нами было показано, что у линий дрозофилы с разным аллельным состоянием локуса *white* количество потомков на стадии куколки и имаго возрастает по сравнению с линией дикого типа в среднем на 30 %, увеличивается длительность предимагинального развития, снижается устойчивость к голоданию (Горенская и др., 2015). Средняя продолжительность жизни самок дрозофилы с мутантными аллелями гена *white* не отличается от самок линии дикого типа, у самцов линий $w(C-S)$ и $w^a(C-S)$ показатель увеличивается (Горенская, Навроцкая, 2019). Суммарная частота доминантных летальных мутаций у линий с разным аллельным состоянием локуса *white* не отличается от значений у линии дикого типа (Горенская и др., 2015).

Установлено также участие метаболитов кинуренинового пути обмена триптофана в ответах на стресс у дрозофилы (иммобилизационный стресс, тепловой шок) (Журавлев и др., 2020). Очевидно, механизм процесса связан с нарушением уровня и распределения серотонина и дофамина – гормонов, участвующих в стресс-реакции дрозофилы, у мутантных особей. Полученные в работе эффекты от действия ЭМИ НВЧ определяются, в том числе, и особенностями метаболизма у линий дрозофилы, несущих мутацию w^a .

Таким образом, в работе показано, что кратковременное действие электромагнитного излучения КВЧ диапазона на виргинных имаго линий дрозофилы, несущих мутацию w^a , модифицирует репродукцию и предимагинальную смертность особей, вызывая снижение частоты эмбриональной смертности и уменьшая количество особей, погибших на стадии куколки. Количество потомков имаго после облучения родителей, как правило, не отличается от контрольных значений, а в потомстве особей линии $w^a(C-S)$ в возрасте 20–25 суток возрастает. Сила выраженности эффекта микроволнового облучения зависит от возраста родительских особей и генетического фона линий *Drosophila melanogaster*, несущих мутацию w^a .

Список литературы / References

- Атраментова Л.О., Утевська О.М. (2007). Статистичні методи в біології. Х.: ХНУ імені В.Н.Каразіна. 288 с. [Atramentova L.O., Utevska O.M. (2007). *Statistical methods in biology*. Kharkiv: V.N.Karazin KhNU. 288 p.]
- Горенская О.В., Гаврилов А.Б., Шкорбатов Ю.Г., Катрич В.А. (2010). Влияние генотипа на приспособленность дрозофилы при воздействии малых доз сверхвысокочастотного электромагнитного излучения. *Вісник проблем біології і медицини*, 1, 52–56. [Gorenskaya O.V., Gavrilov A.B., Shkorbatov Yu.G., Katrich V.A. (2010). Influence of genotype on viability of *drosophila* under small doses of microwave radiation. *Bulletin of Problems in Biology and Medicine*, 1, 52–56.]

- Горенская О.В., Костенко В.В., Воробьева Л.И., Таглина О.В. (2015). Влияние аллельного состояния локуса *white* на некоторые показатели приспособленности у *Drosophila melanogaster*. *Вісник проблем біології і медицини*, 1, 74–79. [Gorenskaya O.V., Kostenko V.V., Vorobyova L.I., Taglina O.V. (2015). The influence of allelic state of locus *white* on some parameters of fitness in *Drosophila melanogaster*. *Bulletin of Problems in Biology and Medicine*, 1, 74–79.]
- Горенская О.В., Навроцкая В.В. (2019). Анализ роли триптофан-кинуренинового метаболизма в контроле длительности жизни *Drosophila melanogaster*. *Фактори експериментальної еволюції організмів*, 25, 32–38. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1135> [Gorenskaya O.V., Navrotskaya V.V. (2019). Analysis of the role of tryptophan-kynurenine pathway in the life span control in *Drosophila melanogaster*. *Factors of Experimental Evolution of Organisms*, 25, 32–38. <https://doi.org/10.7124/FEEO.v25.1135>]
- Горенская О.В., Шкорбатов Ю.Г., Гаврилов А.Б. (2016). Особенности адаптивного ответа на кратковременное воздействие крайневисокочастотного облучения линий *Drosophila melanogaster*, несущих мутацию *black*. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія»*, 26, 108–116. [Gorenskaya O.V., Shkorbatov Y.G., Gavrilov A.B. (2016). Features of the adaptive response to the short-term influence of microwave radiation in *Drosophila melanogaster* stocks with *black* mutation. *The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 26, 108–116.]
- Дика Л.Д., Страшнюк В.Ю., Шкорбатов Ю.Г. (2016). Компоненти пристосованості у *Drosophila melanogaster* за впливу мікрохвильового опромінювання. *Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Біологія»*, 26, 65–73. [Dyka L.D., Strashnyuk V.Yu., Shkorbatov Yu.G. Fitness components in *Drosophila melanogaster* after the exposure to microwave radiation. *The Journal of V.N.Karazin Kharkiv National University. Series "Biology"*, 26, 65–73.]
- Журавлев А.В., Никитина Е.А., Савватеева-Попова Е.В. (2020). Роль кинуренинов в регуляции поведения и процессов памяти у дрозофилы. *Интегративная физиология*, 1(1), 40–50. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50> [Zhuravlev A.V., Nikitina E.A., Savvateeva-Popova E.V. (2020). Role of kynurenines in regulation of behavior and memory processes in *Drosophila*. *Integrative Physiology*, 1(1), 40–50. <https://doi.org/10.33910/2687-1270-2020-1-1-40-50>]
- Костенко В.В., Колот Н.В., Воробьева Л.И. (2015). Изучение стадий эмбриональной гибели *Drosophila melanogaster* в зависимости от возраста и голодания имаго. *Онтогенез*, 46(6), 1–9. <https://doi.org/10.1134/S1062360415060065> [Kostenko V.V., Kolot N.V., Vorobyova L.I. (2015). Research of embryonic mortality stages of *Drosophila melanogaster* depending on age and starvation of an imago. *Russ. J. Dev. Biol.*, 46, 381–388. <https://doi.org/10.1134/S1062360415060065>]
- Некрасова А.В., Золотых И.В., Лаврик А.А. (2000). Генетический контроль спонтанного мутирования при старении у *Drosophila melanogaster*. *Известия Харьковского энтомологического общества*, VIII(1), 175–178. [Nekrasova A.V., Zolotykh I.V., Lavrik A.A. (2000). Genetic control of spontaneous mutation during aging in *Drosophila melanogaster*. *Bulletin of the Kharkov Entomological Society*, VIII(1), 175–178.]
- Adler M.I., Cassidy E.J., Fricke C., Bonduriansky R. (2013). The lifespan-reproduction trade off under dietary restriction is sex-specific and context-dependent. *Exp. Gerontol.*, 48, 539–548. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2013.03.007>
- Atli E., Unlü H. (2007). The effects of microwave frequency electromagnetic fields on the fecundity of *Drosophila melanogaster*. *Turk. J. Biol.*, 31, 1–5.
- Averous J., Bruhat A., Mordier S., Fafournoux P. (2003). Recent advances in the understanding of amino acid regulation of gene expression. *J. Nutr.*, 133(6), 2040S–2045S. <https://doi.org/10.1093/jn/133.6.2040S>
- Blackman C.F., Blank M., Kundi M. et al. (2007). The bioinitiative report – a rationale for a biologically-based public exposure standard for electromagnetic fields (ELF and RF). <http://www.bioinitiative.org>
- Drummond-Barbosa D., Spradling A.C. (2001). Stem cells and their progeny respond to nutritional changes during *Drosophila* oogenesis. *Dev. Biol.*, 231, 265–278. <https://doi.org/10.1006/dbio.2000.0135>
- Harvey C., French P.W. (2000). Effects on protein kinase C and gene expression in a human mast cell line, HMC-1, following microwave exposure. *Cell. Biol. Int.*, 23, 739–748. <https://doi.org/10.1006/cbir.1999.0436>
- Hill D.L. (1945). Chemical removal of the chorion from *Drosophila* eggs. *Drosophila Information Service*, 19, 62.
- Johansson O. (2009). Disturbance of the immune system by electromagnetic fields – a potentially underlying cause for cellular damage and tissue repair reduction which could lead to disease and impairment. *Pathophysiology*, 16, 157–177. <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2009.03.004>
- Margaritis L.H., Manta A.K., Kokkaliaris K.D. et al. (2014). *Drosophila* oogenesis as a bio-marker responding to EMF sources. *Electromagn. Biol. Med.*, 33(3), 165–189. <https://doi.org/10.3109/15368378.2013.800102>

- Markova E., Hillert L., Malmgren L. et al. (2005). Microwaves from GSM mobile telephones affect 53BP1 and gamma-H2AX foci in human lymphocytes from hypersensitive and healthy persons. *Environ. Health Perspect*, 113(9), 1172–1177. <https://doi.org/10.1289/ehp.7561>
- Memmi B.K., Ünlü H. (2007). The effects of short duration microwave exposure on the life span and the induction of sex-linked recessive lethal mutations in *Drosophila melanogaster*. *Hacettepe J. Biol. & Chem.*, 35(3), 173–179.
- Panagopoulos D.J. (2012). Gametogenesis, embryonic and post-embryonic development of *Drosophila melanogaster*, as a model system for the assessment of radiation and environmental genotoxicity / In: *Drosophila melanogaster: Life Cycle, Genetics*. Nova Science Publishers, Inc., pp. 1–38.
- Panagopoulos D.J., Karabarounis A., Margaritis L.H. (2004). Effect of GSM 900-MHz mobile phone radiation on the reproductive capacity of *Drosophila melanogaster*. *Electromagnetic Biology and Medicine*, 23(1), 29–43. <https://doi.org/10.1081/JBC-120039350>
- Panagopoulos D.J., Margaritis L.H. (2003). Effects of electromagnetic fields on the Reproductive Capacity of *Drosophila melanogaster* / In: P.Stavroulakis (Ed.), “*Biological Effects of Electromagnetic Fields*”. Springer, pp. 545–578.
- Sagioglou N.E., Manta A.K., Giannarakis I.K. et al. (2016). Apoptotic cell death during *Drosophila* oogenesis is differentially increased by electromagnetic radiation depending on modulation, intensity and duration of exposure. *Electromagn. Biol. Med.*, 35(1), 40–53. <https://doi.org/10.3109/15368378.2014.971959>
- Shakina L.A., Pasiuga V.N., Dumin O.M., Shkorbatov Y.G. (2011). Effects of microwaves on the puffing pattern of *D. melanogaster*. *Central European Journal of Biology*, 6(4), 524–530. <https://doi.org/10.2478/s11535-011-0032-x>
- Vermeulen C.J., Loeschcke V. (2007). Longevity and the stress response in *Drosophila*. *Exp. Gerontol.*, 42(3), 153–159. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2006.09.014>
- Weisbrot D., Lin H., Ye L. et al. (2003). Effects of mobile phone radiation on reproduction and development in *Drosophila melanogaster*. *J. Cell. Biochem.*, 89(1), 48–55. <https://doi.org/10.1002/jcb.10480>

Аналіз репродукції та преімагінальної смертності у *Drosophila melanogaster* при дії мікрохвильового випромінювання

О.В. Горенська, Д.В. Рибак, Н.В. Рибак, Г.Г. Горенський, Ю.Г. Шкорбатов

Новий вид антропогенного впливу – низькоінтенсивне надвисокочастотне (НВЧ) електромагнітне випромінювання (ЕМВ) демонструє різноманіття генетичних ефектів. Особливий інтерес представляють питання формування адаптивної відповіді організмів в умовах короткочасного впливу НВЧ випромінювання в залежності від генотипу особин. Метою даної роботи був аналіз плодючості та преімагінальної загибелі особин *Drosophila melanogaster* в залежності від віку батьків при дії мікрохвильового випромінювання. Використовували лінії дрозофіли, що несуть мутацію *white^{apricot}*, але різняться генетичним фоном, на якому знаходиться ця мутація: *w^a(C-S)*, *w^a(Or)* і *w^a*. В роботі опромінювали віргінних імаго, параметри зовнішнього впливу – потужність $W=10$ мкВт/см², частота $F=65$ ГГц, експозиція $t=5$ хвилин. Аналізували стадії загибелі ембріонів, загибель особин на стадії лялечки та кількість нащадків на стадії імаго. Результати дослідження показали, що дія електромагнітного опромінення на віргінних імаго дрозофіл з порушенням метаболізму триптофану модифікує виживання потомства на преімагінальних етапах онтогенезу. В потомстві молодих особин (3–8 добових імаго) знижується частота ембріональної загибелі в період 0–5,5 годин (початкові стадії дроблення і утворення бластодерми) і 5,5–17 годин (стадія гастрюляції і сегментації ембріона, гістогенез). Загальна кількість нащадків на стадії імаго не відрізняється від контрольних значень, рівень смертності на стадії лялечки також не змінюється в потомстві молодих батьків після дії ЕМВ НВЧ. Збільшення віку батьківських пар, які зазнали короткочасного впливу ЕМВ НВЧ в першу добу після виходу імаго, до 20–25 діб, призводить до зниження частоти ембріональної смертності нащадків в період від 17 до 22 годин ембріогенезу (стадія органогенезу і вихід личинки з хоріона). Сумарна частота ембріональної загибелі визначається віком батьків. Сила впливу цього фактора для ліній становить, відповідно, $h^2_{w^a}=69,7\%$, $h^2_{w^a(C-S)}=52,2\%$ і $h^2_{w^a(Or)}=64,9\%$. Дія ЕМВ НВЧ впливає на частоту ембріональної загибелі тільки у лінії *w^a(Or)* ($h^2_{ЕМВ\ НВЧ}=18,3\%$). Зовнішній вплив не призводить до зміни кількості нащадків імаго у особин у віці 0–5 діб; в потомстві особин у віці 20–25 діб у лінії *w^a(C-S)* показник збільшився в 1,2 рази. Показано зниження кількості загиблих особин на стадії лялечки в потомстві 20–25-добових батьків після дії ЕМВ НВЧ в середньому в три рази.

Ключові слова: НВЧ, дрозофіла, преімагінальна загибель, кількість нащадків імаго, вік імаго.

Про авторів:

О.В. Горенська – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, olgavg2014@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0028-2522>

Д.В. Рибак – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, dasharyback@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7107-5937>
 Н.В. Рибак – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, liya.miller.31@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5088-6020>
 Г.Г. Горенський – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, gorenskiyg@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0002-0035-2239>
 Ю.Г. Шкорбатов – Харківський національний університет імені В.Н.Каразіна, пл. Свободи, 4, Харків, Україна, 61022, yuriy.shckorbatov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3315-0932>

Analysis of *Drosophila melanogaster* reproduction and preadult mortality after the influence of microwave radiation

O.V. Gorenskaya, D.V. Rybak, N.V. Rybak, H.H. Horenskyi, **Yu.G. Shckorbatov**

A new type of anthropogenic impact – low-intensity electromagnetic radiation of extremely high frequencies (EHF EMR) demonstrates various genetic effects. The questions of the organism adaptive response formation to short-term exposure of EMR that depends on the individual's genotype are of particular interest. The objective of this study was to analyze the reproductive ability and preadult mortality in *Drosophila melanogaster* with *white^{ap¹icot}* mutation after the influence of microwave radiation. We used *D. melanogaster* stocks that carry *white^{ap¹icot}* mutation, but differ in the genetic background on which this mutation is located: *w^a(C-S)*, *w^a(Or)* and *w^a*. Virgin flies were irradiated. The parameters of the external influence were power flux density $W=10 \mu\text{W}/\text{cm}^2$, frequency $F=65 \text{ GHz}$, exposure time $t=5$ minutes. The stages of embryo death, number of adult offspring, and mortality rate at the pupal stage were analyzed. The results of the study showed that the effect of electromagnetic radiation on virgin imagoes of *Drosophila* with an impaired tryptophan metabolism modifies the survival rate of the offspring at the preimaginal stages of ontogenesis. In the offspring of young flies (at the age of 3–8 days) the frequency of embryonic mortality decreases during the 0–5.5 hours period (initial stages of cleavage and blastoderm formation) and 5.5–17 hours period (stage of gastrulation and embryo segmentation, histogenesis) of embryogenesis. The total number of offspring at the adult stage does not differ from the control values; the mortality rate at the pupal stage also does not change in the offspring of young parents after exposure to EMR. An increase in the age of parental couples that were exposed to short-term EMR on the first day after eclosion from pupae (20–25 days aged) leads to a decrease in the embryonic mortality rate of offspring during the 17–22 hours of embryogenesis (organogenesis stage and larval exit from chorion). The total embryonic mortality rate is determined solely by the age of the parents. The strength of this factor for the stocks is $h^2_{w^a}=69.7 \%$, $h^2_{w^a(C-S)}=52.2 \%$ and $h^2_{w^a(Or)}=64.9 \%$ respectively. The impact of EMR affects the embryonic mortality rate only for the *w^a(Or)* ($h^2_{EMR}=18.3 \%$). External exposure does not change the number of imago offspring in individuals aged 0–5 days; the number of adult offspring increased by 1,2 times in individuals aged 20–25 days in the stock *w^a(C-S)*. A decrease in the number of dead individuals at the pupal stage in the descendants of 20–25-day-old parents after exposure to EMR EHF on average by three times was shown.

Key words: EHF EMR, *drosophila*, preadult mortality, number of adult offspring, adult age.

About the authors:

O.V. Gorenskaya – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, olgavg2014@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-0028-2522>
 D.V. Rybak – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, dasharyback@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7107-5937>
 N.V. Rybak – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, liya.miller.31@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5088-6020>
 H.H. Horenskyi – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, gorenskiyg@outlook.com, <https://orcid.org/0000-0002-0035-2239>
 Yu.G. Shckorbatov – V.N.Karazin Kharkiv National University, Svobody Sq., 4, Kharkiv, Ukraine, 61022, yuriy.shckorbatov@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-3315-0932>

Представлено: Т.О.Єлецька / Presented by: T.O.Yeletska

Рецензент: В.Ю.Страшнюк / Reviewer: V.Yu.Strashnyuk

Подано до редакції / Received: 10.04.2020