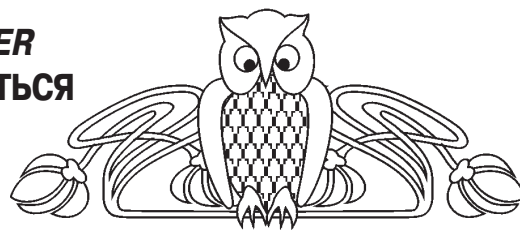




УДК 574.3(575.826)

## СПОСОБНОСТЬ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ АДАПТИРОВАТЬСЯ К АНТРОПОГЕННЫМ ГЕНОТОКСИКАНТАМ

Е. С. Селезнева, З. П. Белоусова



Селезнева Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры зоологии, генетики и общей экологии, Самарский национальный исследовательский университет имени С. П. Королева, catana7@yandex.ru

Белоусова Зоя Петровна, кандидат химических наук, доцент кафедры органической, биоорганической и медицинской химии, Самарский национальный исследовательский университет имени С. П. Королева, zbelousova@mail.ru

Представлены результаты многолетних исследований способности инбредной популяции *Drosophila melanogaster*, живущей в овощехранилище, адаптироваться к генотоксическому действию полулетальной дозы бензотриазола. В период с 1980 по 2010 г. из популяции каждые десять лет изымалась часть имаго, которых впоследствии разводили на стандартном корме, используемом для лабораторных линий дрозофилы. Раздельно самок и самцов имаго подвергали разовому воздействию бензотриазолом в полулетальной дозе. Выживших имаго оставляли на размножение, так было исследовано пять поколений в каждой созданной микропопуляции. В каждом поколении у имаго анализировали выживаемость, плодовитость и число индуцированных ДЛМ. Обнаружено, что с 1980 по 2010 г. популяция частично утратила способность восстанавливать выживаемость и плодовитость. Наиболее чувствительными по этим критериям оказались самцы. Во все анализируемые годы бензотриазол индуцировал доминантные летальные мутации. Самки имаго оказались более чувствительными к мутагенному действию бензотриазола, чем самцы. Максимальное число доминантных летелей всегда наблюдалось в первом поколении микропопуляции, каждого из исследованного года, к пятому поколению число индуцированных мутаций достоверно снижалось, но всегда было выше уровня спонтанно возникающих доминантных летелей у имаго исходной популяции, не подвергшейся воздействию бензотриазола.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, бензотриазол, генотоксичность, популяции, выживаемость, плодовитость, адаптация, доминантные летели.

DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-98-102

В Самарской губернии природные популяции *Drosophila melanogaster* способны выживать только в закрытых овощехранилищах, где температурные условия и наличие пищи позволяют им пережить холодную зиму, характерную для резко континентального климата. Такие популяции представляют собой замкнутые инбредные системы, возникшие из нескольких особей, случайно завезенных из южных регионов с фруктами и подвергшихся воздействию различных пестицидов,

используемых для хранения урожая и его защиты от плесневых грибов и насекомых.

Исследование таких популяций позволит исследовать устойчивость генофонда инбредных популяций дрозофилы к действию антропогенного фактора, сила воздействия которого запрограммировано высока и постоянна.

Целью данного исследования является анализ способности диких микропопуляций *Drosophila melanogaster* адаптироваться к разовому воздействию бензотриазола, используемого в дозе LD<sub>50</sub> для имаго дрозофилы.

### Материал и методы

Объектом исследования явилась популяция дрозофилы, обитающая в овощехранилище города Сызрани. Имаго для экспериментов изымали из популяции каждые десять лет, начиная с 1980 г. Для этого их отлавливали с помощью ловушек, представляющих собой пробирки с кормом, на поверхность которого наносили дрожжи. Количество отловленных имаго в разные годы колебалось от 300 до 500 особей.

На время проведения эксперимента полученные микропопуляции содержали в лаборатории на стандартной среде, включающей дрожжи, сахар, изюм, манную крупу и агар-агар. В качестве генотоксиканта использовали водный раствор бензотриазола в дозе LD<sub>50</sub>, который составил для имаго исходной линии: для самок – 8,9 мг/мл; для самцов – 7,2 мг/мл. Бензотриазолом воздействовали на девственных самок и самцов в возрасте 3-4 дней.

Изучение способности имаго дрозофилы адаптироваться к генотоксичности бензотриазола проводили по определенной схеме. Для этого самок и самцов раздельно по 1000 экземпляров содержали в популяционных ящиках объемом 500 мл, куда помещали чашки Петри диаметром 4 см, на желатиновую подложку которых вносили бензотриазол в дозе LD<sub>50</sub>. Через сутки подсчитывали число выживших имаго, которых затем скрещивали с интактными особями противоположного пола того же возраста.

Подсчитывали как общее количество яиц, сравнивая их с числом яиц отложенных имаго



F<sub>0</sub> поколения, так и число индуцированных доминантных летальных мутаций (ДЛМ). F<sub>0</sub> поколением мы называли микропопуляцию, которая свободно размножалась в популяционном ящике от отобранных из хранилища имаго и из которого впоследствии отбирали девственных самок F<sub>0</sub>.

Количество индуцированных ДЛМ оценивали по методу Белоконь [1]. Для этого в течение 12 ч через каждые два часа в популяционные ящики помещали чашки Петри со стандартным кормом, куда откладывались яйца, для подсчёта числа индуцированных яиц с эмбриональной летальностью.

Из отложенных яиц получали следующее поколение, которое содержали на стандартном корме и затем подвергали суточному воздействию бензотриазолом в дозе LD<sub>50</sub>. В каждом поколении после разового воздействия бензотриазолом анализировали выживаемость имаго, плодовитость и число индуцированных ДЛМ.

Воздействие бензотриазолом производили в течение шести поколений: от F<sub>0</sub> до F<sub>5</sub>.

Достоверность различий между устойчивостью к генотоксичности бензотриазола самок и самцов разных поколений, микропопуляций разных десятилетий оценивали с помощью двухфакторного дисперсионного анализа [2].

### Результаты и их обсуждение

Исследованная популяция дрозофилы существовала в исследуемом овощехранилище сорок лет. Периодически в данную популяцию попадали яйца и куколки дрозофилы, завозимые с фруктами из южных регионов России. Большинство из них так или иначе обрабатывались пестицидами.

Мы предположили, что эти обработки выступают селекционным фактором, отбирающим особей с высокоактивными системами адаптации к антропогенным генотоксикантам. В связи с тем что поступающие в овощехранилище фрукты для их сохранности в разные годы подвергали воздействию различных пестицидов, мы предположили, что селекции будут подвергаться гены, неспецифические к действию определённого типа ксенобиотика.

Для того чтобы проверить возможность селекции такого рода, через каждые десять лет мы изымали из данной популяции имаго и разводили их в лаборатории на стандартном корме, а затем подвергали в течение пяти поколений разовому воздействию бензотриазолом в дозе LD<sub>50</sub>. После чего сравнивали выживаемость, плодовитость и число доминантных летелей, возникших в каждом поколении.

Все рассмотренные микропопуляции характеризовались схожей динамикой развития приспособлений к разовому воздействию бензотриазолом в полублетальной дозе. Анализ показал, что выживаемость имаго после разового воздействия в ряду поколений каждой микропопуляции возрастала к пятому поколению как у самок, так и самцов ( $p < 0,0001$ ) (рис. 1).

Однако механизмы адаптации у особей разных полов отличаются, так как выживаемость самцов всегда меньше, чем у самок, что особенно ярко видно в линиях 2010 г. Кроме того, в исходной популяции, из которой изымались особи F<sub>0</sub>, произошла существенная потеря адаптивных возможностей, что выражалось в снижении в течение пяти поколений (каждого анализируемого

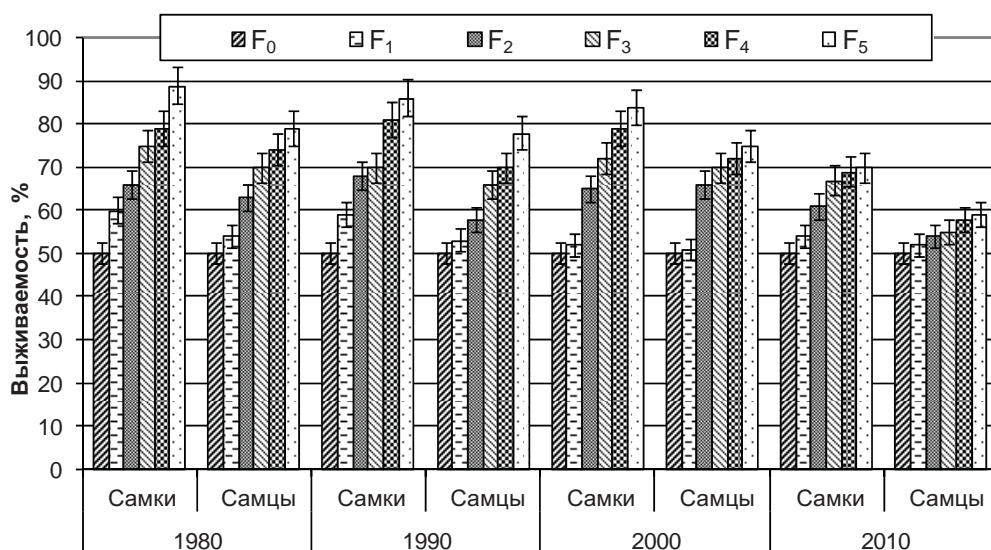


Рис. 1. Выживаемость имаго дрозофилы исследованных линий под действием полублетальной дозы бензотриазола



года) способности приспосабливаться к токсическому действию бензотриазола. Если в 1980 г. выживаемость самок в пятом поколении после воздействия бензотриазолом достигла 89%, а самцов 79%, то в 2010 г. выживаемость самок в пятом поколении составляла лишь 70%, а у самцов – 59%. Возможно, это связано с повышением инбредности исходной популяции, а также с тем, что она перестала пополняться генами из диких популяций, так как в последние десять лет в овощехранилище поступали овощи только из Самарской области, где *Drosophila melanogaster* в диком виде не проживает.

Под действием бензотриазола в течение этих лет снижалась и способность популяции к воспроизводству, что также является косвенным доказательством инбредности, так как подобные популяции только частично восстанавливают свою плодовитость под влиянием экспериментального воздействия за счёт снижения гетеро-

генности. Для того чтобы получить возможность сравнивать результаты, мы приняли плодовитость первого поколения за 100%. Результаты суммированы на рис. 2.

После первого воздействия полулетальной дозой бензотриазола на все исследованные микропопуляции плодовитость упала до 35% у самок и до 30% у самцов по сравнению с плодовитостью  $F_0$ . К пятому поколению плодовитость у имаго достоверно возрастает ( $p < 0,0001$ ), причём у самок достоверно больше, чем у самцов. Однако к 2016 г. способность восстанавливать плодовитость достоверно упала, как у самок, так и самцов. Если в 1988 г. самки смогли восстановить плодовитость до 67%, а самцы до 62% по сравнению с плодовитостью  $F_0$ , то к 2010 г. плодовитость пятого поколения достигала только 53%, а у самцов – 44% по сравнению с плодовитостью  $F_0$  того же года, что достоверно отличается от  $F_0$ .

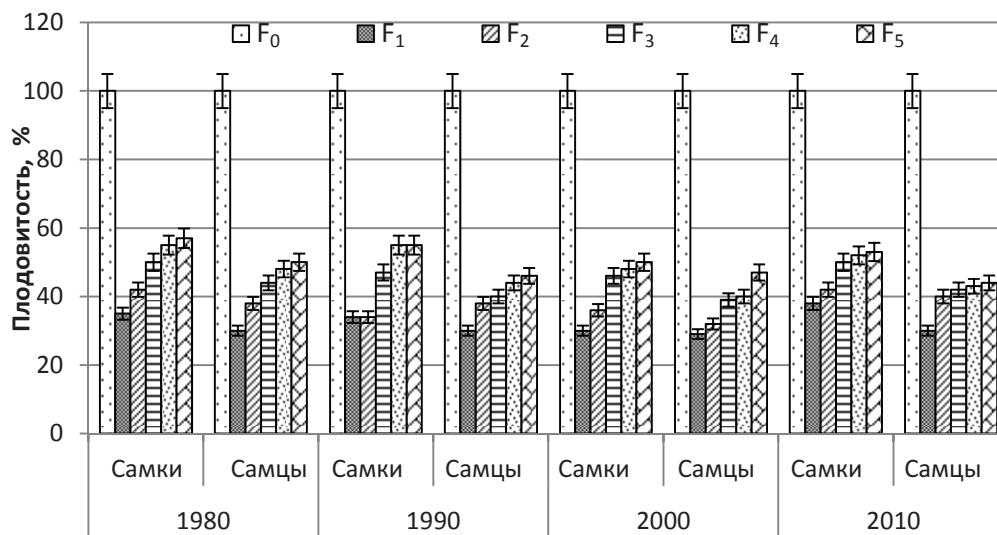


Рис. 2. Плодовитость имаго дрозофилы исследованных линий под действием полулетальной дозы бензотриазола

Снижение способности популяции восстанавливать плодовитость в течение пяти поколений в 2010 г., по-видимому, говорит о потере популяцией части генов, отвечающих за способность адаптироваться к антропогенному генотоксиканту в дозе  $LD_{50}$

Механизм действия бензотриазола на *Diptera* мало изучен, хотя эбриотоксичность бензотриазола для млекопитающих известна. И. Н. Охота в своей работе не выявил у бензотриазола и его производных кумулятивных свойств. Тем не менее при длительном введении бензотриазола в организм млекопитающих у живот-

ных развивается хроническая интоксикация [3].

В отличие от исследований, проводимых И. Н. Охота, мы вели наблюдения более длительно и выявили последствия действия хронической интоксикации неизвестной этиологии. Эксперимент с бензотриазолом подтвердил ранее высказанную точку зрения о том, что стихийно проходящие приспособительные процессы не могут быть абсолютно целесообразными [4]. Также проведенные исследования показали, во все анализируемые годы бензотриазол индуцировал доминантные летальные мутации (рис. 3).

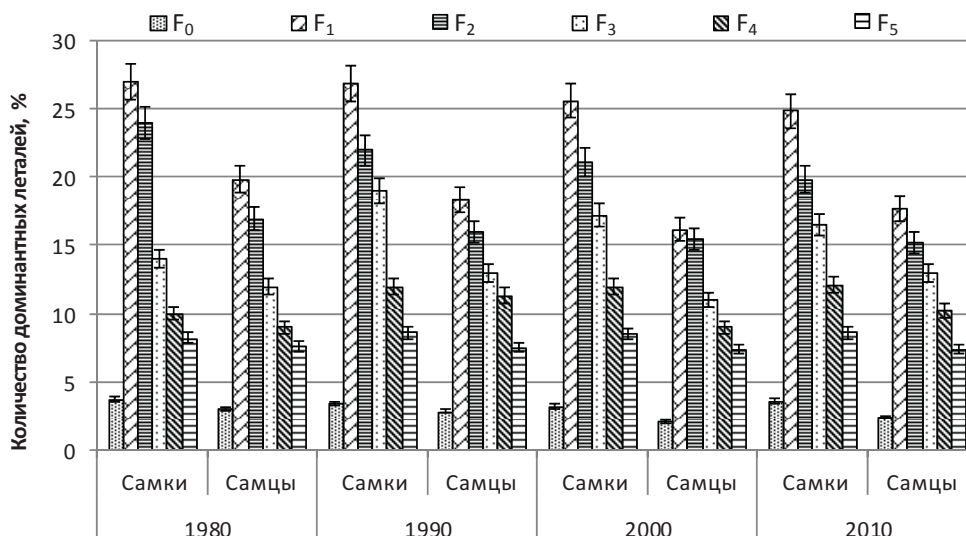


Рис. 3. Количество доминантных леталей, индуцированных бензотриазолом у *Drosophila melanogaster*

Максимальное число доминантных летальных мутаций всегда наблюдалось в F<sub>1</sub>, причём самки оказались достоверно более чувствительными к мутагенному действию бензотриазола, чем самцы ( $p < 0,0001$ ), во все годы исследований. К пятому поколению (F<sub>5</sub>) во всех исследованных годах число доминантных летальных мутаций колебалось от 6,3 до 6,0% у самок, и от 4,6 до 4,1% у самцов, что всегда было выше уровня спонтанно возникающих доминантных леталей в F<sub>0</sub>.

Можно предположить, что проведенная нами селекция касалась генов ферментов, отвечающих за детоксикацию бензотриазола, оказывающего эмбриотоксичное действие. Это согласуется с исследованиями токсического действия бензотриазола на млекопитающих, выявивших, что в механизме нарушений, возникающих под влиянием бензотриазола и его производных, также определенное значение имеют изменения окислительно-восстановительных процессов, белкового и углеводного обменов [5].

Различия в воздействии бензотриазолом на имаго разных полов связаны с особенностями созревания половых продуктов. Так, при воздействии бензотриазолом на самок мишенью являются ооциты I порядка, на самцов – зрелые сперматозоиды. Полученные результаты хорошо согласуются с результатами экспериментов по воздействию бензотриазолом на лабораторную популяцию *Drosophila melanogaster* линии Canton-S [6].

Снижение числа индуцированных доминантных леталей указывает на то, что селекция могла идти и по генам, отвечающим за механизмы

репарации мутагенных повреждений, но, по-видимому, пяти поколений недостаточно, чтобы отобрать особей, устойчивых к мутагенному действию бензотриазола.

Несмотря на то что возрастает выживаемость и плодовитость имаго в ряду поколений каждой микропопуляции, после воздействия бензотриазолом способность популяции восстанавливать эти параметры с 1989 к 2010 г. уменьшается, хотя и число доминантных леталей остается к пятому поколению неизменным в разные исследуемые годы. Нам кажется это убедительным доказательством снижения адаптационных возможностей данной популяции.

Можно предположить, что использование пестицидов любого типа приводит к изменению генофонда насекомых, постоянно контактирующих с ними. Это может привести к снижению их адаптационных возможностей, и, следовательно, необходимы технологии, снижающие риск воздействия подобных веществ на генофонд природных популяций.

#### Список литературы

1. Белоконь Е. М. Методические указания к определению мутагенной активности химических препаратов на дрозофиле. Львов : Львов. гос. ун-т, 1984. 26 с.
2. Лакин Г. Ф. Биометрия. М. : Высш. шк., 1990. 352 с.
3. Охота И. Н. Токсикология бензотриазола, его производных и гигиена труда при их производстве и применении : автореф. дис. ... канд. мед. наук. Киев, 1985. 21 с.
4. Давыдовский И. В. Проблема причинности в медицине. М. : Госмедиздат, 1962. 176 с.



5. Паустовская В. В. Структура ингибиторов коррозии металлов : токсичность, характер действия на организм // Современная промышленная токсикология. 2001. № 4. С. 24–36.
6. Селезнева Е. С. Исследование механизмов адаптации дрозофилы к бензотриазолу // Изв. Самар. науч. центра РАН. 2006. Т. 8, № 2. С. 564–569.

**Ability of *Drosophila Melanogaster* from Natural Populations to Adapt to Anthropogenic Genotoxicants**

**E. S. Selezneva, Z. P. Belousova**

Ekaterina S. Selezneva, Samara National Research University named after Academician S. P. Korolev, 34, Moskovskoe Shosse, Samara, 443086, Russia, catana7@yandex.ru

Zoya P. Belousova, Samara National Research University named after Academician S. P. Korolev, 34, Moskovskoe Shosse, Samara, 443086, Russia, zbelousova@mail.ru

The results of long-term studies of the ability of the inbred population of *Drosophila melanogaster* living in a vegetable store to adapt

to the genotoxic effect of a half-lethal dose of benzotriazole are presented. A part of the imago was taken from the population, afterwards they were bred on a standard fodder used for the *Drosophila* laboratory lines, this was done every ten years from 1980 to 2010. Female and male imago were separately subjected to a single exposure to benzotriazole in a semi-lethal dose. Surviving imago were retained for reproduce, so five generations were studied in each created micropopulation. In each generation in adults, the survival, fertility and number of induced DLM were analyzed. It was found that from 1980 to 2010 the population partially lost the ability to restore survival and fertility. The males were the most sensitive to these criteria. Benzotriazole induced the dominant lethal mutations during the analyzed years. Female imago were more sensitive to the mutagenic effect of benzotriazole than males. The maximum number of dominant lethals was always observed in the first generation of the micropopulation, each of the studied years. The number of induced mutations significantly decreased by the fifth generation, but was always higher than the level of spontaneously occurring dominant lethals in the imago of the original population not exposed to benzotriazole.

**Key words:** *Drosophila melanogaster*, benzotriazole, genotoxicity, population, survival, fecundity, adaptation, dominant lethals.

**Образец для цитирования:**

Селезнева Е. С., Белоусова З. П. Способность *Drosophila melanogaster* из природных популяций адаптироваться к антропогенным генотоксикантам // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2018. Т. 18, вып. 1. С. 98–102. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-98-102.

**Cite this article as:**

Selezneva E. S., Belousova Z. P. Ability of *Drosophila melanogaster* from Natural Populations to Adapt to Anthropogenic Genotoxicants. *Izv. Saratov Univ. (N.S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 1, pp. 98–102 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-1-98-102.