

УДК 575+591.3+615.894.19

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ИМПУЛЬСНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ У ВЗРОСЛЫХ ОСОБЕЙ *Drosophila melanogaster*, ОБЛУЧЕННЫХ НА РАННЕЙ СТАДИИ ПОСТЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

© 2008 г.

П.В. Сидоров, Г.В. Чернова, В.В. Сидоров

Институт естествознания Калужского государственного педагогического университета

sidorov-kgpu@inbox.ru

Поступила в редакцию 01.07.2008

Представлены данные о дозовой зависимости рекомбинационных процессов в соматических клетках взрослых особей *Drosophila melanogaster*, подвергнутых воздействию низкоинтенсивного импульсного лазерного излучения (НИЛИ) на третьей стадии постэмбрионального периода развития. Показано влияние двух исследуемых факторов (дозы НИЛИ и генотипа организма) на частоту встречаемости рекомбинантных форм. Приведены достоверные границы генеральных параметров степени воздействия каждого фактора и их суммарного влияния на результирующий признак.

Ключевые слова: низкоинтенсивное импульсное лазерное излучение (НИЛИ), дрозофила, онтогенез, генотипические и фенотипические эффекты.

Известно, что генетическая рекомбинация – фундаментальное свойство, представленное на всех этапах организации живого [1]. Она обеспечивает перестройку родительских геномов и появление потомства с новым сочетанием наследственных факторов [2]. В результате генетической рекомбинации наблюдается комбинативная изменчивость. Одним из ее источников является мейотический кроссинговер, генетические доказательства которого были получены в лаборатории Т. Х. Моргана [1].

Идея о феномене соматической рекомбинации была предложена А.С. Серебровским в 1925 году [3]. Доказательство соматического (митотического) кроссинговера показано в исследованиях на дрозофиле при наблюдении мозаичных пятен у особей с генотипом ysn^+/y^+sn [4, 5]. Гены y (*yellow* – желтое тело) и sn (*singed* – опаленные щетинки) находятся в X-хромосоме – первой хромосоме *Drosophila melanogaster*.

В настоящей работе контрольные и опытные группы представлены особями-носителями генов, локализованных также в первой хромосоме *Drosophila melanogaster*: y (*yellow*), w (*white*), f (*foked*), ct (*cut*). Для оценки частоты соматического кроссинговера анализировалось проявление ряда морфологических признаков на груди дрозофилы. В данном исследовании к ним отнесены зоны расположения щетинок, изменение их морфологических особенностей, появление новых форм (не свойственных исследуемому генотипу) и мозаичных пятен (в том числе одинарных и крупных). Все указанные признаки

свидетельствовали о величине клона рекомбинантных клеток. Мозаичные пятна, как показано [5], образуются тогда, когда рядом расположены две группы (два клона) клеток, фенотипически отличающиеся друг от друга и от клеток остальных тканей данной особи. При анализе выявленных изменений определялось общее число особей с морфологическими отклонениями от нормы и, соответственно, частота митотического кроссинговера, выраженная в виде его относительной величины и ее стандартной ошибки ($P \pm m_p\%$).

На рис. 1. отражена дозовая зависимость количества рекомбинантных взрослых особей (имаго), которые подвергались воздействию (НИЛИ) на третьей стадии постэмбрионального развития. Генотипы облученных особей – y^+ctf^+/y^+ct^+f (фенотип: $y^+ct^+f^+$), $y^+ct^+f^+/yctf^+$ (фенотип $y^+ct^+f^+$), т.е. оба фенотипа проявили доминантные признаки (признаки дикого типа). При этом у первого генотипа ген f^+ , а у второго – ct^+ были в гетерозиготном состоянии.

Здесь необходимо отметить, что воздействие НИЛИ осуществлялось при использовании лазерного аппарата АЛТ «УЗОР-А-2К» [6]. Дозы энергии НИЛИ рассчитывались по формуле, приведенной в работе [7]. В соответствии со сведениями рис. 1, которые отражают влияние дозы энергии НИЛИ на уровень соматической рекомбинации, максимальный эффект проявлялся при дозе энергии НИЛИ, равной 49.4 мДж/см^2 , и в несколько меньшей степени – при дозе НИЛИ 98.7 мДж/см^2 . При этом эмпи-

рические данные статистически значимы в 100% случаев (доза энергии 49.4 мДж/см²) и в 66.7% (доза энергии НИЛИ 98.7 мДж/см²).

Из данных рис. 1 также следует, что достоверное увеличение общей относительной величины соматического кроссинговера наблюдалось и при самой малой примененной в опыте дозе энергии НИЛИ (2.6 мДж/см²), в то время как дозы энергии НИЛИ, равные 4.9 мДж/см² и 19.7 мДж/см², не обнаруживали статистически значимого эффекта.

При воздействии дозами энергии НИЛИ (2.6, 4.9, 9.9, 19.7, 49.4, 98.7 мДж/см², рис. 2) на особей третьей стадии постэмбрионального

развития генотипов: $y^+w^+ct^+f/yw^+ctf^+$ и $y^+w^+ctf^+/y^+w^a ct^+f$, маркированных 4 генами (y , w^a , ct , f), локализованными в X-хромосоме, направленность дозовой зависимости была подобна ранее описанной (рис. 1). Однако достоверно эффективным было влияние следующих доз НИЛИ: 9.9, 19.7, 49.4 и 98.7 мДж/см² соответственно (рис. 2).

Максимальное же значение признака было обусловлено дозой энергии 49.4 мДж/см² (рис. 2). При этом отметим, что все рекомбинантные особи (имаго) обнаружили один фенотип и проявляли доминантные признаки. Вместе с тем,

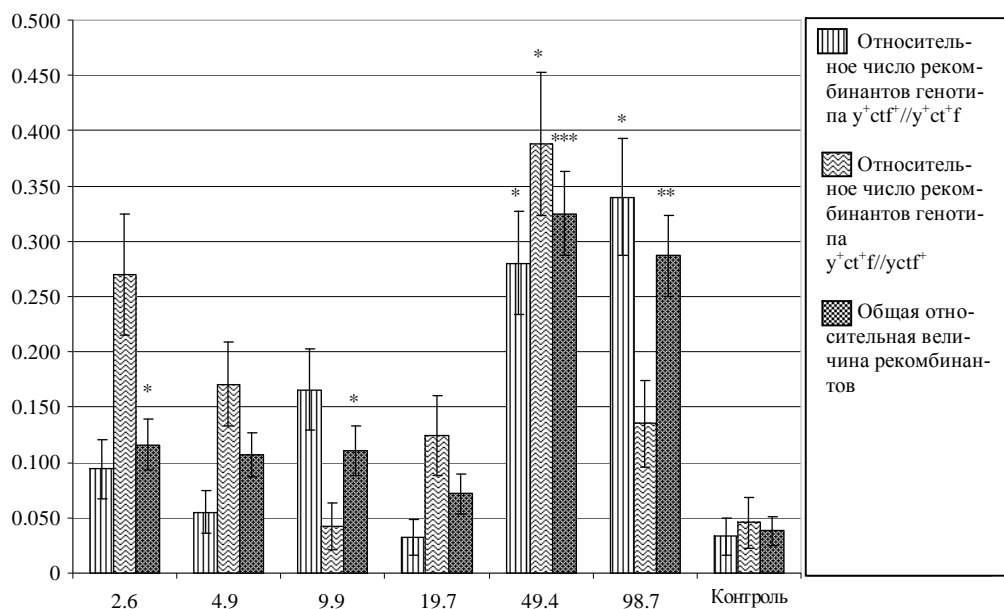


Рис. 1. Число рекомбинантов имаго, полученных при воздействии НИЛИ на особей третьей стадии постэмбрионального развития. По оси абсцисс показаны дозы энергии (мДж/см²), по оси ординат – частота встречаемости генотипов (см. в тексте), выраженная в процентах, и ее стандартная ошибка. Стадии постэмбрионального развития определяли по [8]

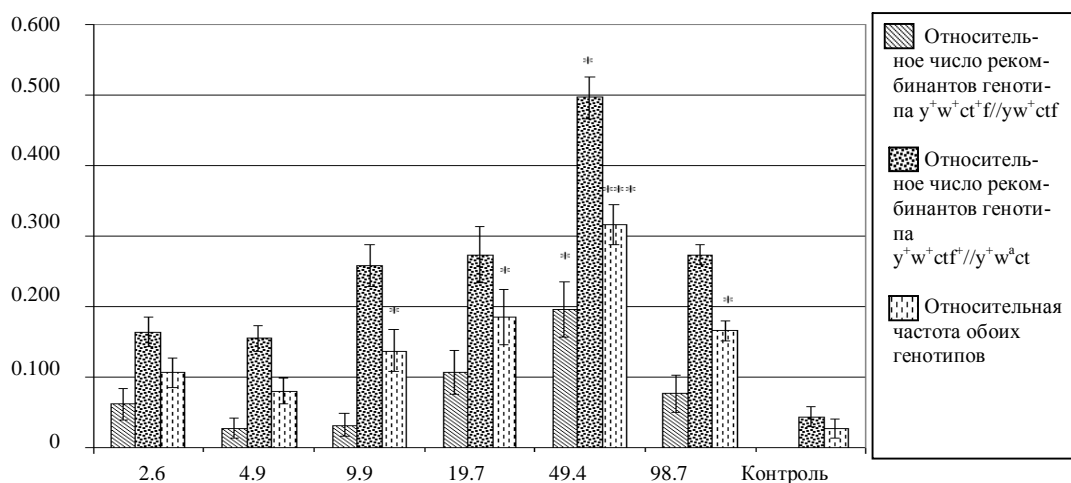


Рис. 2. Число рекомбинантов имаго, полученных при воздействии НИЛИ на особей третьей стадии постэмбрионального развития. По оси абсцисс показаны дозы энергии (мДж/см²), по оси ординат – частота встречаемости генотипов, выраженная в процентах и их стандартной ошибки

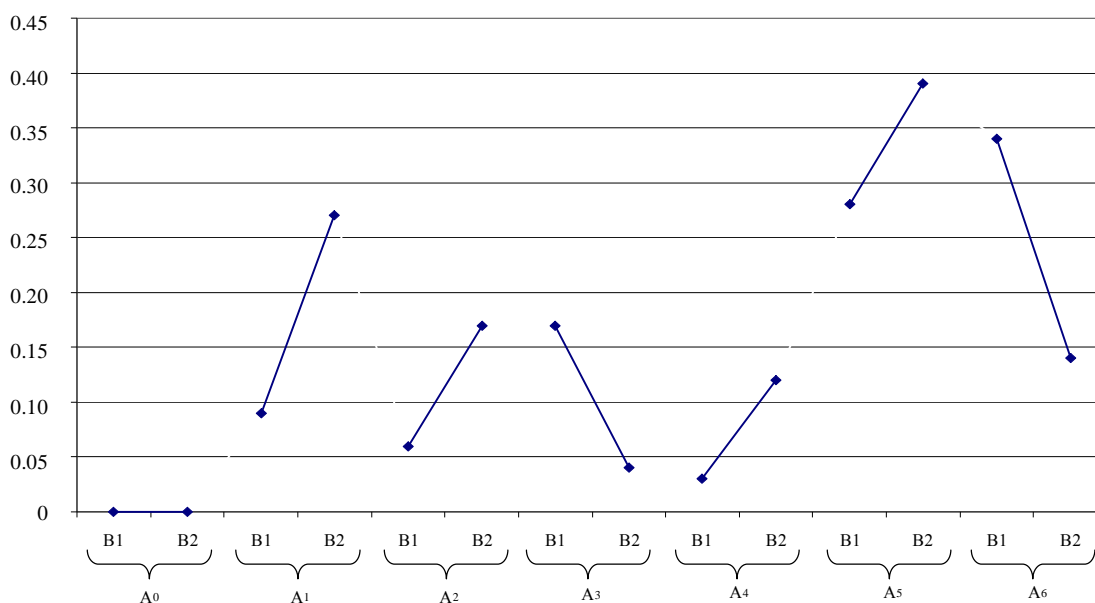


Рис. 3. Зависимость частоты соматического кроссинговера от дозы энергии (фактор А: А₀ – контроль, А₁ – доза энергии НИЛИ 2.6, А₂ – 4.9, А₃ – 9.9, А₄ – 19.7, А₅ – 49.4, А₆ – 98.7 мДж/см²) и генотипа (фактор В: В₁ – $y^{+}ctf^{+}/y^{+}ctf^{+}$, В₂ – $y^{+}ctf^{+}/yctf^{+}$) облученных особей *Drosophila melanogaster* на 3-ей стадии постэмбрионального развития, по результатам дисперсионного анализа двухфакторного неравномерного комплекса для качественных признаков. По оси абсцисс – градации факторов, по оси ординат – частота кроссинговера в %

данные рис. 2. показывают, что разные генотипы имели существенные (статистически) значимые различия в фенотипическом проявлении признака. Причина, обусловившая их, определяется тем, что один генотип являлся тригетерозиготой по генам $y^{+}ctf^{+}$, а другой – тригетерозиготой по генам $w^{+}ctf^{+}$.

Данные, характеризующие общее количество рекомбинантов, полученных при воздействии НИЛИ на особей всех генотипов 3-й стадии постэмбрионального развития, и отражающие суммарную частоту соматического кроссинговера, показали, что в опытных группах достоверно (при разных уровнях значимости) наблюдались отклонения от контрольных значений при применении следующих доз энергии: 2.6, 9.9, 19.7, 49.4 и 98.7 мДж/см².

Для оценки влияния на частоту соматического кроссинговера изученных двух факторов (фактор А – доза энергии НИЛИ, его градации: А₀ – контроль, А₁ – 2.6, А₂ – 4.9, А₃ – 9.9, А₄ – 19.7, А₅ – 49.4, А₆ – 98.7 мДж/см²; фактор В – генотипы облученных особей на третьей стадии постэмбрионального развития: В₁ – $y^{+}ctf^{+}/y^{+}ctf^{+}$, В₂ – $y^{+}ctf^{+}/yctf^{+}$) был составлен двухфакторный неравномерный дисперсионный комплекс для качественных признаков. Его результаты показаны на рис. 3 и в таблице. Сила влияния первого фактора (А) была не значительной ($\eta_A^2 = 0.10 \pm 0.03$, $p < 0.001$ характеризует статистическую значимость самого показателя), но статистически достоверной. Критерий Фишера, показывающий силу влияния данного

фактора: $F_{\phi} = \delta_A^2 / \delta_Z^2 = 2.91 > F_{st} = 2.8$ при $p < 0.01$, где F_{ϕ} – рассчитанный критерий, δ_A^2 – факториальная вариация, δ_Z^2 – случайная вариация. Доверительные границы генерального показателя (η_A^2) определяются значениями: $\eta_A^2 = \{0.037 ? 0.163$. В выборочном комплексе оказалось достоверным влияние доз НИЛИ и суммарное действие обоих (А и В) учитываемых в анализе факторов ($\eta_X^2 = 0.10 \pm 0.05$, достоверность самого показателя: $p = 0.05$). Статистическую значимость η_X^2 отражает значение критерия Фишера: $F_{\phi} = 1.7 = F_{st} = 1.7$ ($p = 0.05$). Это означает, что сила влияния фактора А (дозы НИЛИ) в значительной степени определяется градацией другого фактора В (генотипами облученных особей). Доверительные границы генерального параметра $\eta_X^2 = \{0.015 ? 0.185$. При определении достоверности влияния разных доз энергии НИЛИ на результирующий признак значимыми оказались различия между градациями: А₁ и А₄ (дозы НИЛИ 2.6 и 19.7 мДж/см², $p < 0.001$), А₁ и А₅ (дозы НИЛИ 2.6 и 49.4 мДж/см², $p < 0.01$).

Результаты дисперсионного анализа полностью согласуются с данными рис. 1, на котором представлены данные о влиянии НИЛИ на особей тех же генотипов, и свидетельствуют о статистически значимой зависимости частоты соматического кроссинговера от дозы энергии НИЛИ и генотипа организма.

Полученные результаты согласуются с признанием того, что исходное функциональное состояние организма и прежде всего его генетических систем создает определенные внутренние (эндогенные) условия формирования первичных звеньев ответной реакции, определяет пороговые величины, направленность и степень выраженности того или иного эффекта НИЛИ [9–11].

Список литературы

1. Жученко А. А., Гужов Ю.Л., Пухальский В.А. Генетика: Учебное пособие для вузов / Под ред. А.А. Жученко. М.: КолоС, 2006. 480 с.
2. Смирнов В.Г. Цитогенетика. М.: Высшая школа, 1991. 247 с.
3. Жученко А.А., Король А.Б. Рекомбинация в эволюции и селекции. М.: Наука, 1985. 400 с.
4. Patterson J.T. Somatic segregation produced by X-rays in *Drosophila melanogaster* // Proc. Natl. Acad. Sci. 1930. V. 16. P. 109–111.
5. Алиханян С.И., Акифьев А.П., Чернин Л.С. Общая генетика: Учеб. для студ. биол. спец. ун-тов. М.: Высш. школа, 1985. 448 с.
6. Евстигнеев А.Р. Медико-технические аспекты конструкций лазерных терапевтических аппаратов серии «Узор» и «Улей» // Новые аспекты лазерной медицины и техники на пороге XXI века: Сборник научных трудов ЛАН РФ. 2000. С. 56–64.
7. Евстигнеев А.Р. Физикотехнические особенности использования импульсного ИК лазерного излучения в биомедицине. В сб.: Применение полупроводниковых лазеров и светодиодов в медицине. Калуга. 1994. Вып. 4. С. 42–48.
8. Детлаф Т.А. Безразмерные критерии времени развития зародышей, личинок и куколок дрозофилы и зародышей пчелы в таблицах нормального развития // Онтогенез. 1995. Т. 26. С. 125–131.
9. Чернова Г.В., Кузьмичев В.Е., Эндебера О.П., Каплан М.А. Некоторые результаты исследований действия низкоинтенсивного импульсного лазерного излучения на организменном уровне // Физическая медицина. 1993. Т. 3. № 3–4. С. 44–45.
10. Каплан М.А. Электроэнцефалографическая оценка действия низкоинтенсивного инфракрасного лазерного облучения на мозг человека. В сб.: Лазеры и аэроионы в биомедицине. Калуга–Обнинск, 1997. С. 29.
11. Чернова Г.В., Эндебера О.П., Кожухарь А.Ю., Беденко В.П. Модификация некоторых показателей живых организмов экзогенными электромагнитными излучениями // Вестник Калужского университета. Калуга, 2007. С. 48–55.

GENETIC EFFECTS ON *Drosophila melanogaster* ADULTS IRRADIATED BY A LOW-INTENSITY PULSE LASER AT AN EARLY STAGE OF THE POST-EMBRYONIC DEVELOPMENT

P.V. Sidorov, G.V. Chernova, V.V. Sidorov

The data have been presented on the dose-dependence of recombination processes in somatic cells of *Drosophila melanogaster* adults exposed to low-intensity laser radiation (LILR) at the third stage of their post-embryonic development. The influence of two factors under study (LILR dose and body genotype) on the occurrence of recombinant forms has been shown. Reliable limits of general parameters of each factor's degree of influence and of their aggregate influence upon the resultant feature have been presented.