

ID: 2012-06-7-A-1585

Оригинальная статья

Федоров В.И., Вайсман Н.Я.* , Немова Е.Ф., Мамрашев А.А.** , Николаев Н.А.**

Отдаленные результаты влияния терагерцового излучения на стрессированных самок дрозофил*Институт лазерной физики СО РАН, Новосибирск***Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск****Институт автоматики и электрометрии СО РАН, Новосибирск*

Fedorov V.I., Vaisman N.Ya., Nemova E.F., Mamrashev A.A., Nikolaev N.A.

Long-term results of the influence of THz radiation to *Drosophila* females under stress**Резюме**

Цель исследования – изучение влияния терагерцового излучения на численность и динамику развития потомства самок дрозофил. Материал – девственные самки дрозофил линии Oregon R. Мух подвергали стрессовому воздействию (ограниченное пространство без корма в течение 2.5 часов). Часть мух при этом облучали генератором терагерцового излучения в диапазоне частот 0.6 – 2.2 ТГц в течение 30 мин. Результаты. Стрессирование отразилось в отклонении динамики созревания потомства до стадии имаго от лабораторного контроля. Терагерцовое облучение оказало разнонаправленное действие: динамика вылета имаго самок приблизилась к лабораторному контролю, численность имаго самцов уменьшилась. Заключение. Терагерцовое излучение вызывает отклонение от теоретически ожидаемого 1:1 расщепления по полу.

Ключевые слова: терагерцовое излучение, дрозофила, стресс

Abstract

The purpose of this investigation is the study of THz influence on female fruit fly fertility and offspring development dynamics. The material is virgin females Oregon R line. Flies (n = 200) were stressed by limited space without food during 2.5 hours. Some of flies (n = 100) were irradiated by THz radiation generator in frequency range 0.1 – 2.2 THz during 30 min. The results were compared with the offspring of laboratory control (n = 100). Objectively. Stress induces a rejection of offspring maturation dynamics to imago from laboratory control. THz radiation induces different effects. The dynamics of female maturation coincides with laboratory control. The number of imago males decreased. Conclusion. THz radiation causes a deviation from theoretically expected 1:1 gender ratio.

Key words: terahertz radiation, drosophila, stress

Введение

Изучение биологических эффектов терагерцового излучения (0,1 – 10 ТГц) – достаточно новая область исследований. Установлено, что терагерцовое излучение оказывает влияние на состояние биологических объектов различных уровней организации (организмы, клетки, молекулы) [1]. Однако при трактовке результатов экспериментов с терагерцовым облучением биологических объектов доминирует представление о нагреве объекта как непосредственном физическом механизме наблюдаемого эффекта. Такая трактовка обусловлена тем, что нагрев представляется наиболее очевидным механизмом воздействия излучения терагерцового диапазона. Однако наиболее очевидное далеко не всегда оказывается единственно верным. Поскольку в экспериментах *in vitro* с биомолекулами или с клетками вклад нагрева в биоэффект исключить трудно, то при проведении экспериментов с дрозофилами, когда облучают взрослых мух или личинок и регистрируют отдалённые результаты облучения по различным морфологическим, биохимическим или генетическим параметрам потомства в случае облучения родительских особей или развившихся до взрослого состояния облучённых личинок, свести объяснение результата эксперимента к нагреву крайне некорректно, и потому такие эксперименты являются доказательством специфического влияния терагерцового облучения на сложные живые системы, не связанного напрямую с нагревом объекта, тем более, что облучение происходит в открытой системе без препятствия теплоотдаче. Различными авторами показано, что терагерцовое облучение вызывает при одних дозах увеличение плодовитости дрозофил и повышение выживаемости их первого поколения [2], при других – прямо противоположные эффекты: стерильность и индукцию рецессивных летальных мутаций в первом поколении [3]. Показано, что терагерцовое излучение инициирует уменьшение числа соматических мутаций у взрослых мух, вызванных гамма-облучением в личиночном периоде. При этом частоты соседних диапазонов облучения (ИК и КВЧ) только усугубляют эффект гамма-облучения [4].

В настоящей работе исследовали влияние терагерцового излучения на стрессированных самок дрозофил. Известно, что воздействие стрессорных факторов разнообразной природы на самок дрозофил вызывает изменение статуса эндокринной системы, влияющее на плодовитость и оогенез [5]. В связи с этим предметом исследования была оценка численности и особенности динамики развития потомства F1 облученных и необлученных стрессированных самок дрозофил.

Материал и методы

В эксперименте использовали самок дрозофил линии Oregon R из фонда Института цитологии и генетики СО РАН. Стресс создавали помещением животных по 20 особей в ограниченное пространство (стандартные пробирки Эппендорф) на 2.5 ч без корма. Общее число стрессированных животных составило двести особей. Сто из них были подвергнуты терагерцовому облучению в течение последних 30 мин стресса. После этого облученных и необлученных мух помещали в стандартные лабораторные условия на свежий корм при температуре 25°C (по 20 особей в отдельную пробирку) и сразу же подсаживали самцов. Через 2 дня взрослых мух отсаживали из всех пробирок. Регистрировали динамику вылета имаго потомства F1, пол и численность созревших мух. Результаты сравнивали с лабораторным контролем, которым явилось потомство F1 мух, содержащихся в обычных условиях ведения линии со стандартным кормом (5 пробирок по 20 особей в пробирке).

В качестве источника терагерцового излучения использовали систему, созданную в Институте автоматики и электрометрии СО РАН. Система генерирует широкополосное импульсное терагерцовое излучение в диапазоне 0.1 – 2.2 ТГц с длительностью импульса 1 пс, мощностью в импульсе 0.5 мВт. Частота повторения импульсов 76 МГц. Излучение модулируется с частотой 10 КГц.

Результаты

Динамика созревания до стадии имаго у самцов и самок потомства F1 лабораторного контроля была неодинаковой. Первые вылеты состоялись на 11-й день от начала спаривания. В этот день число вылетевших самцов было в три раза выше, чем самок. Вылеты продолжались по 20-й день включительно. Максимум вылета отмечен на 12-й день от начала спаривания. Второй, менее выраженный, максимум зарегистрирован у самцов на 15-й день от начала спаривания, у самок – на 16-й день. При этом соотношение вылетевших самцов и самок на 12-й и 15-й дни было практически одинаковым. Минимальное число вылетевших имаго между первым и вторым максимумами у самцов и самок было одинаковым. У самцов это было зарегистрировано на 13-й, а у самок – на 14-й день от начала спаривания. Начиная с 16-го дня, общее число вылетевших самок несколько преобладало (таблица). В итоге суммарное число вылетевших самцов и самок оказалось практически сходным: 714 и 710 особей, соответственно.

Таблица. Динамика созревания самцов и самок в потомствах контрольных и подопытных мух линии Oregon R

Дни после спаривания	Лабораторный контроль		Стресс		Стресс + облучение	
	самцы	самки	самцы	самки	самцы	самки
10	0	0	0	0	0	0
11	89	30	76	24	99	35
12	237	249	186	147	138	186
13	43	65	93	110	65	49
14	62	44	82	81	94	59
15	98	94	95	106	94	105
16	93	109	76	85	80	121
17	58	66	56	55	48	67
18	21	33	39	44	42	68
19	7	12	24	52	14	26
20	6	8	15	23	9	8
21	0	0	0	0	0	0
Общее число	714	710	742	727	683	724
Всего	1424		1469		1407	
Соотношение полов	1:1		1.02:1		0.94:1	

У потомства F1 стрессированных самок, не подвергнутых терагерцовому облучению, сроки вылета имаго совпали с лабораторным контролем. Динамика вылета мух отличалась от динамики вылета потомства F1 лабораторного контроля и была неодинаковой у самцов и самок. Отмечено три максимума вылета самок: на 12-й (наиболее выраженный), 15-й и 19-й дни от начала спаривания и два максимума вылета самцов: 12-й (более выраженный) и 15-й дни от начала спаривания с последующим монотонным уменьшением общего числа вылетевших особей (таблица).

Количество самцов, вылетевших на 11-й день от начала спаривания, превышало количество вылетевших самок в три раза (как и в лабораторном контроле), однако по численности оно было меньше, чем в лабораторном контроле (на 15 % у самцов и на 20 % у самок). Количество мух, вылетевших на 12-й день от начала спаривания и составивших первый максимум вылета, было меньше, чем в лабораторном контроле в 1.3 (самцы) и в 1.7 (самки) раза (таблица). То есть, в отличие от лабораторного контроля, число вылетевших самцов преобладало над числом вылетевших самок.

Суммарное число вылетевших самцов и самок (742 и 727 особей, соответственно) несколько превысило значения лабораторного контроля, в силу того, что число вылетевших самцов и самок было выше, чем в лабораторном контроле, на 13-й, 14-й и с 18-го по 20-й дни от начала спаривания. У самок, кроме того, это наблюдалось и на 15-й день от начала спаривания (таблица).

В потомстве F1 стрессированных мух, подвергнутых терагерцовому облучению, вылеты имаго также наблюдались с 11-го по 20-й дни от начала спаривания. На 11-й день число вылетевших самцов также в три раза преобладало над числом вылетевших самок. При этом число вылетевших самцов и самок было выше, чем в потомстве F1 необлученных стрессированных мух в 1.3 и в 1.5 раза, соответственно, и выше, чем в потомстве F1 лабораторного контроля, но не столь существенно (таблица).

Динамика вылета самцов и самок имеет по два максимума. Первый максимум наблюдается, как и в вышеописанных группах, на 12-й день от начала спаривания. При этом в отличие от тех и других, число вылетевших самцов меньше, чем самок (в 1.35 раза). Второй максимум вылета самцов в потомстве F1 облученных стрессированных мух наступает раньше, чем в потомстве F1 необлученных стрессированных мух и лабораторного контроля. Второй максимум вылета самок наблюдается на один день позже, чем в потомстве F1 стрессированных необлученных мух, но совпадает с максимумом лабораторного контроля (таблица). Таким образом, динамика вылета самцов в потомстве F1 облученных стрессированных мух отличается от динамики, характерной для вышеописанных групп, тогда как динамика вылета самок отличается от динамики, характерной для потомства F1 стрессированных необлученных мух, но приближается к динамике вылета самок в потомстве F1 лабораторного контроля.

Общее число вылетевших самок в потомстве F1 облученных стрессированных мух составило 724 особи. Это совпадает со значением, характерным для потомства F1 необлученных стрессированных мух. Общее число вылетевших самцов в потомстве F1

облученных стрессированных мух составило 683 особи, что на 8 % меньше, чем в потомстве F1 необлученных стрессированных мух. Это обусловлено более низким числом вылетевших самцов на 12-й, 13-й и 19-й дни от начала спаривания (рисунок, в). Соответственно, общее число вылетевших самцов в потомстве F1 облученных стрессированных мух на 6 % меньше, чем потомстве F1 лабораторного контроля. Снижение численности самцов привело к отклонению от теоретически ожидаемого (1:1) соотношения полов, которое наблюдается в лабораторном контроле и у стрессированных необлученных животных. В потомстве F1 облученных стрессированных мух оно составило 0.94:1.

Таким образом, обнаружено, что кратковременный стресс не отразился на численности потомства самок и соотношении полов имаго F1. Отмечено лишь незначительное превышение численности по сравнению с лабораторным контролем. Однако динамика вылета имаго самок и самцов существенно изменилась.

Обсуждение

Терагерцовое облучение стрессированных самок повлияло на общую численность потомства F1, а также на созревание и динамику вылета имаго, проявления которых оказалось разнонаправленным в зависимости от пола потомства. Динамика вылета имаго женского пола приблизилась к показателям лабораторного контроля. Это положительное влияние терагерцового излучения на динамику вылета сочеталось с негативным влиянием на жизнеспособность самцов F1 с отклонением от теоретически ожидаемого 1:1 расщепления по полу.

Возможно, что обнаруженные нами тенденции воздействия терагерцового облучения находятся в зависимости не только от пола, но и генотипа как матерей, так и потомства исследуемой линии. Характер отклика на терагерцовое воздействие может определяться частотой и мощностью излучения, дозой воздействия и т.д. При других параметрах опыта с другими генетическими линиями дрозофил возможно выявление более значимых эффектов терагерцового излучения на потомство облученных самок.

Стрессовые факторы, однократно действующие на разных стадиях онтогенеза, могут выступать как возмущающие воздействия и приводить к изменениям в процессе развития. Ответ на кратковременное стрессовое воздействие у дрозофилы опосредован действием биогенных аминов и гормонов. Не исключено участие и других классов биологически активных молекул. Изменение гормонального статуса самок под воздействием стресса направленно влияет на репродуктивную функцию [5] и отражается на экспрессии материнских генов в клетках яйцевой камеры. Продукты экспрессии поступают в яйцеклетку перед оплодотворением, но часть из них долго сохраняется в цитоплазме и после дополнительной активации выполняет свои функции в зиготе после оплодотворения [6]. Стресс у самок отражается на скорости созревания, численности и морфогенетических характеристиках ооцитов [7] и, как следствие, на признаках взрослого потомства. У насекомых может возникать состояние диапаузы и останавливаться оогенез. Действие гормонов может быть разнонаправленным и зависеть от их активности и концентрации. В нашем случае отклонения в динамике вылета имаго от контроля у потомства стрессированных самок могли возникнуть или в результате негативного действия стресса на процесс оогенеза и созревание ооцитов, или на скорость созревания зигот. Последующее кратковременное терагерцовое облучение могло оказать позитивное восстанавливающее воздействие на эти процессы. Возможно, в силу этого, динамика вылета имаго женского пола в потомстве F1 облученных самок стала ближе к контролю. Это соответствует установленной тенденции: терагерцовое излучение способствует развитию восстановительных процессов и смягчает эффект действия чрезвычайных раздражителей [1].

Однако этого не наблюдалось у имаго мужского пола. Здесь следует отметить, что экспрессия генов единственной X-хромосомы и правильное формирование пола у самцов в развитии дрозофилы зависит не только от соотношения между числом половых хромосом и аутосом, но и от сложной системы взаимодействий продуктов многочисленных материнских и зиготических генов [6]. Можно предположить, что под действием облучения в части зигот формируется комплекс материнских белков, нарушающих экспрессию X-хромосомы в мужских эмбрионах. Такие зародыши самцов становятся нежизнеспособными, в силу чего в F1 возникает отклонение от нормального расщепления по полу, что и наблюдалось в данной работе.

Заключение

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что терагерцовое излучение оказывает прямое или опосредованное нервной и эндокринной системами воздействие на ооциты, приводя к разным условиям для последующего развития потомства самцов и самок. При этом, если тепловое действие имело место, то оно было одинаковым для всех облученных мух. Дальнейшие исследования на модельных животных, возможно, помогут расшифровать непосредственные механизмы воздействия терагерцового излучения на репродуктивные признаки.

Литература

1. Федоров В.И. // Миллиметровые волны в биологии и медицине. 2011. № 3. С. 5-17.
2. Залюбовская Н.П., Чепель Л.М., Шахбазов В.Г. // Вестн. Харьк. гос ун-та. 1970, № 39, сер. биол., вып. 2. С. 42-44.
3. Mi Zhengyu. // Infrared Phys. 1989. Vol. 29. P. 631-636.
4. Федоров В.И., Погодин А.С., Дубатолова Т.Д., Варламов А.В., Леонтьев К.В., Хамоян А.Г. // Биофизика. 2001. Т. 46, № 2. С. 298-302.
5. Грунтенко Н.Е. // Евраз. энтомол. журн. 2008. Т. 7, прил. 1. С. 3-46.
6. Серов О.Л. Генетика развития. Новосибирск. 1998.
7. Sizemore R.C. // Cell Develop. Biol. 2012. Vol. 1. № 1. P. 1-2.