

АНОМАЛИИ КРЫЛЬЕВ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ ДЕЙСТВИИ МЫШЬЯКА, КАДМИЯ, РТУТИ И СВИНЦА*

Аннотация. Изучены тераты крыльев, вызванные действием разных доз мышьяка, кадмия, ртути и свинца в различных комбинациях в трех поколениях. Описаны аномалии крыльев, установлены их частоты в зависимости от концентрации и комбинации тяжелых металлов, во многих случаях выявлена генетическая природа абберантов.

Ключевые слова: тяжелые металлы, *Drosophila melanogaster*, изменчивость крыльев.

В настоящее время известно большое количество мутаций у *D. melanogaster*, затрагивающих форму крыльев, многие из которых вызывают уменьшение их размеров. Большинство подобных мутаций локализованы в аутосомах, а некоторые – в X-хромосоме. Они могут возникать как спонтанно, так и индуцированно под воздействием различных излучений и химических веществ [4].

Данная работа выполнена в рамках исследования действия ионов мышьяка, кадмия, ртути и свинца на биологические показатели *D. melanogaster*. В качестве объекта использовали лабораторную линию дикого типа *Berlin*. Изучали действие указанных ТМ во всех возможных комбинациях. Допустимые уровни (ДУ) содержания их для большинства пищевых продуктов равны соответственно 0,2, 0,03, 0,02 и 0,5 мг/кг. Такие ДУ указаны и для фруктов и овощей [2], продуктами брожения которых питается дрозофила. Для приготовления растворов были взяты соли $Cd(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$, $Hg(NO_3)_2 \cdot 2H_2O$, $Pb(NO_3)_2$ и Na_3AsO_3 . Растворы готовили в такой концентрации, чтобы питательные среды содержали 1 – 10 ДУ ТМ, в контроле использовали дистиллированную воду.

Методика приготовления среды и постановки эксперимента описана нами в ранее опубликованной статье [2]. Полученные данные обрабатывали статистически [3].

В вариантах опытов с использованием мышьяка (As+Cd, As+Hg) среди 3847 особей обнаружено 12 самцов с укороченными крыльями. Еще один такой самец получен при совместном действии кадмия, свинца и ртути.

Для определения характера наследования данного признака эти самцы были скрещены с самками дикого типа. В первом поколении все потомство оказалось нормальным. Часть мушек F_1 была скрещена друг с другом, а часть самок F_1 подверглась возвратному скрещиванию с исходными самцами (табл. 1). Среди потомков нормальных по фенотипу гибридных мушек были обнаружены самцы с укороченными крыльями, но ни одной такой самки выявлено не было. Результаты скрещиваний свидетельствуют о том, что короткокрылость представляет собой мутацию. По своей природе данная мутация является рецессивной и сцепленной с X-хромосомой.

Определение плодовитости самок различных вариантов скрещиваний показало, что максимальная величина данного показателя наблюдалась у особей дикого типа. В случаях, когда один из родителей имел нормальные крылья, а другой – нет, потомство было более многочисленным, чем у короткокрылых особей. Следует отметить, что пары, в которых нормальными были самки, оказались более плодовитыми, чем те, где нормальными были самцы (5,85 и 4,03 соответственно). В комбинации «короткокрылые × короткокрылые» около 25 % самок не дали потомства. Главная причина бесплодия – ран-

* © Мануйлов И.М., Магулаева А.А., Магулаев А.Ю.

няя гибель самок, не успевающих отложить яйца. Иногда, несмотря на четкую внешнюю выраженность признаков, которые предполагали их плодовитость, самки не оставляли потомства. Были случаи, когда развитие потомства прекращалось на личиночной стадии. В результате плодовитость жизнеспособных самок составила 3,27.

Таблица 1

Результаты скрещивания по установлению характера наследования мутации «короткие крылья» и плодовитости таких мутантов

Тип скрещивания		Нормальные крылья		Короткие крылья		Плодовитость
♀	♂	♀	♂	♀	♂	
д.т.*	к.к.	128	106	–	–	5,85
F ₁	к.к.	228	211	161	148	6,80
F ₁	F ₁	1291	690	–	504	16,57
к.к.	к.к.	–	–	290	299	3,27
к.к.	д.т.	59	–	–	62	4,03
д.т.	д.т.	684	642	–	–	24,11

*Примечание: к.к. – короткие крылья; д.т. – дикий тип.

Наблюдение за общей продолжительностью жизненного цикла и отдельных его стадий показало удлинение сроков развития по сравнению с контролем. Стадия «яйцо – личинка» в потомстве короткокрылых длится от 3 до 7 суток, в потомстве же, где один родитель дикого типа, – 3-6 дней, в контроле она составляет двое суток. В то время как процесс окукливания мушек дикого типа продолжается четыре дня, первые куколки у мутантов обнаруживаются на 2-8 сутки с момента появления первых личинок. В случае, когда один из родителей был взят из дикого типа, окукливание начинается на 3-7 сутки.

Длительность стадии куколки в контроле и в случаях, когда один из родителей был нормальным, составляет в среднем 5 суток. Вылет первых имаго в потомстве мутантных особей в среднем запаздывает на двое суток по сравнению с контролем.

Вследствие удлинения отдельных фаз жизненного цикла затягивается и весь процесс развития от яйца до имаго, который в отдельных случаях длится 19 дней, что превышает общую продолжительность жизненного цикла особей дикого типа на 8 суток. Когда же один из родителей был нормальным, время от закладки эксперимента до появления первых имаго составило 12-15 дней.

На основе детального изучения морфологических признаков мутантной линии, наблюдения за особенностями ее жизненного цикла и исследования плодовитости можно дать следующее ее описание: мутация является рецессивной и сцеплена с X-хромосомой; крылья матовые, менее прозрачные, длина их не достигает края брюшка и составляет около 80 % от нормы, края крыльев овальные; жилкование, количество и расположение щетинок без аномалий; глаза большие, грубоватые; у многих особей на крыльях имеются пузыри, заполненные прозрачной гемолимфой, при лопании которых поверхность крыльев становится морщинистой, а сами крылья узкими и растопыренными; плодовитость низкая, а продолжительность жизни существенно не отличается от дикого типа; отдельные фазы и весь жизненный цикл в целом более растянуты.

Сравнение полученного нами мутанта с ранее известными, гены которых локализованы в X-хромосоме и вызывают укорочение крыльев [4], позволяет исключить идентичность его со следующими мутациями: *Abruptex* (доминантность признака); *cupola*, *contorted*, *canopy wing*, *deformed antenna*, *scooped thickvein*, *divers*, *opaque broad*, *water*

wing, bladderwing, splay wing, cleft (стерильность одного или обоих полов); *broad, ballot, abnormal wing, bordered* (аномалии жилкования); *misproportioned, pterigion* (аномалии брюшка); *prawnu abdomen* (тонкое тело); *miniature* (крылья длиннее брюшка); *concau wing, narrow scoop, inflated, convex wing* (крылья изогнутые или вогнутые); *frail* (аномалии щетинок); *cut* (крылья с вырезками); *small, costakink, outshifted* (глаза маленькие); *wider wing* (крылья шире нормы); *dusky* (крылья укороченные, длиннее брюшка).

Остается единственная мутация *small wing* спонтанного происхождения, выделенная К. Бриджесом в 1925 году [по 4]. Для линии *small wing* (sl^1) характерны короткие крылья, большие грубоватые глаза, обычно сближенные поперечные жилки. Аллель sl^2 выделен при действии высоких доз рентгеновских лучей на самцов дрозофилы дикого типа *Oregon* [5], который отличался от sl^1 К. Бриджеса «более экстремальным», по описанию авторов, проявлением признаков. Мутация sl^{34} получена у самцов, подвергнутых воздействию низких температур [4]. Эта линия характеризуется короткими крыльями, как у sl^1 и sl^2 , но нормальными глазами.

Таким образом, полученная нами мутация, по-видимому, представляет собой фенотипическое выражение еще одного аллеля гена *small wing*, отличающегося от sl^1 и sl^2 нормальными жилками, а от sl^{34} – большими глазами. Новый аллелеморф sl^3 отличается от остальных еще и матовыми крыльями.

При однократном воздействии ионов кадмия в концентрации 1ДУ выделены две самки с зачаточными крыльями. Функциональный тест (скрещивание с линией *vg/vg*) показал аллельность этих мутаций. В потомстве этих особей наряду с типичной формой обнаружены два аллелеморфа: vg^{no} (*vestigial-notched*) и vg^s (*vestigial-strap*). Первый характеризуется короткими крыльями с терминальной вырезкой, а у второго крылья ремнеподобные, часто под прямым углом к телу, жужжальца редуцированы.

Наряду с наследуемыми, выявлены и ненаследуемые aberrации крыльев. Одной из таких аномалий, наблюдаемых у *D. melanogaster* при действии указанных выше ТМ, является плохое раскрытие одного или обоих крыльев. Оно может проявляться в форме сложенных вдоль или поперек крыльев, скрученности или их «скомканности»; часто крылья направлены в разные стороны, вплоть до 90° к телу. У таких особей характер жилкования крыльев изучить не удастся. Нередко встречались мушки со слипшимися по всей длине или кончиками, с прилипшими к телу одним или обоими крыльями и одновременно с плохо раскрытыми крыльями. Аномалии крыльев ведут к потере способности к полету и, естественно, в природных условиях такие особи нежизнеспособны.

Результаты скрещиваний однотипных aberrантов и анализа потомства в трех поколениях показали, что эти отклонения не являются наследственными. Плодовитость таких особей нормальная. Частоты мушек с плохо раскрытыми и слипшимися крыльями представлены в табл. 2 и 3. Эти показатели колеблются в широких пределах и большей частью наличие в среде ионов ТМ значительно повышают количество аномальных мушек по сравнению с контролем. Так, в случае с плохо раскрытыми крыльями частота таких особей доходит до $11,79 \cdot 10^{-3}$ в F_1 при содержании в среде ионов мышьяка и кадмия в концентрации 2 ДУ, до $10,62 \cdot 10^{-3}$ в F_2 при сочетании мышьяка и свинца в дозе 2 ДУ и до $19,33 \cdot 10^{-3}$ в F_3 при наличии в питательной среде 8 ДУ соли ртути. Исключительно редко особи с плохо раскрытыми крыльями обнаруживаются в контроле и только в первом поколении ($0,20 \cdot 10^{-3}$). Не при всех значениях ДУ и разных вариантах опыта встречаются особи с данной аномалией. При действии на дрозофилу четырех металлов в отдельности в 16 случаях из 120 ($13,33 \pm 3,10\%$) не обнаружено мух с плохо раскрытыми крыльями; при попарных сочетаниях ТМ – в 31 из 180 ($17,22 \pm 2,81\%$); при наличии в среде различных комбинаций по три ТМ – в 37 случаях из 120 ($30,33 \pm 4,21\%$); а при сочетании ионов всех четырех металлов – в 9 из 30 ($30,00 \pm 8,36\%$). Отсюда следует, что при совместном

действии трех или четырех ТМ частота вариантов ДУ, при которых встречаются такие тераты, ниже, чем при действии каждого металла в отдельности ($p = 0,9500$).

Максимальные частоты мушек со слипшимися крыльями в эксперименте составляют: в F_1 $19,90 \cdot 10^{-3}$ при совместном нахождении в среде солей кадмия и свинца в концентрации 8 ДУ; в F_2 $15,00 \cdot 10^{-3}$ при 5 ДУ ионов мышьяка и свинца; в F_3 $17,17 \cdot 10^{-3}$ при 7 ДУ мышьяка. В контрольной закладке также были обнаружены дрозофилы со слипшимися крыльями в трех поколениях (0,20, 0,34, 0,59 соответственно).

При действии различных комбинаций по три металла число вариантов опытов, в которых наблюдается отсутствие мух со слипшимися крыльями, достоверно ниже количества вариантов опытов, где не было обнаружено мух с плохо раскрывшимися крыльями ($10,83 \pm 2,84\%$ и $30,83 \pm 4,21\%$ соответственно), в остальных случаях различия по этим показателям несущественны.

Таблица 2

Частота дрозофил с плохо раскрывшимися крыльями ($\times 10^{-3}$)

ТМ	F	ДУ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
As	1	1,85	4,23	4,43	1,81	1,08	2,53	–	0,86	2,09	–
	2	1,69	0,86	1,01	1,99	2,49	–	2,21	4,21	1,25	1,09
	3	5,18	1,55	2,21	3,43	–	2,85	2,15	1,83	5,00	1,19
Cd	1	1,87	1,65	5,64	3,21	2,79	5,20	–	0,77	1,29	3,03
	2	3,97	6,69	4,20	4,43	7,55	3,61	3,52	3,67	2,82	–
	3	3,58	2,61	2,18	1,71	3,04	5,65	9,00	6,18	4,71	0,89
Pb	1	2,71	1,73	–	–	1,01	5,85	0,72	4,37	4,63	3,12
	2	6,65	2,79	3,52	6,27	1,98	1,98	5,38	5,67	–	–
	3	6,76	5,04	2,98	2,69	5,28	3,65	–	5,10	5,65	1,25
Hg	1	–	1,50	2,11	2,92	1,67	1,09	–	2,26	–	0,87
	2	1,36	1,40	–	1,96	1,63	0,86	–	1,55	3,12	7,75
	3	6,97	2,69	4,91	4,99	1,92	5,07	8,93	19,33	6,21	7,86
As+ Cd	1	5,96	11,79	2,91	5,22	2,03	1,23	1,46	0,84	9,57	4,15
	2	4,68	8,76	5,10	3,56	1,34	5,18	8,21	2,46	3,82	4,09
	3	–	3,88	2,45	–	–	1,51	0,85	–	0,92	1,73
As+ Hg	1	1,34	4,68	2,19	1,31	1,17	4,18	1,39	1,39	4,99	4,23
	2	7,78	2,68	3,50	4,29	6,83	4,51	3,36	2,02	7,61	9,02
	3	4,57	5,03	1,71	5,10	2,21	1,67	1,44	–	3,33	5,45
As+ Pb	1	4,44	–	–	0,94	–	1,70	6,97	1,20	–	2,43
	2	8,11	10,62	6,37	6,37	2,81	2,20	0,93	–	0,85	0,91
	3	4,30	2,72	4,61	1,39	1,04	1,37	2,12	1,11	2,02	3,63
Cd+ Pb	1	–	–	2,91	1,17	1,39	–	1,28	–	5,28	4,23
	2	–	2,18	1,34	–	2,18	4,99	3,25	–	–	6,60
	3	1,64	0,85	3,01	3,01	6,05	5,74	1,22	2,26	4,31	2,93
Cd+ Hg	1	–	1,92	1,38	3,80	–	1,67	2,38	1,11	1,08	2,57
	2	2,78	–	2,39	5,22	5,22	1,43	1,13	1,13	–	1,48
	3	1,42	2,89	–	–	–	1,66	–	3,23	–	1,12
Hg+ Pb	1	5,31	7,04	7,44	7,21	2,30	1,21	2,84	–	2,27	2,15
	2	6,56	3,01	7,13	8,20	2,92	2,08	3,01	3,16	3,57	1,32
	3	3,94	0,89	4,18	1,70	–	0,80	1,20	5,80	–	–
As+ Cd+ Hg	1	47,62	1,52	–	1,42	1,33	1,14	2,04	–	4,82	–
	2	1,21	1,17	1,93	–	4,12	–	1,56	–	2,41	5,32
	3	1,23	1,60	–	1,47	1,79	–	–	–	0,81	1,00
As+ Cd+ Pb	1	–	–	1,31	–	1,49	1,24	1,89	2,29	–	–
	2	1,49	–	–	1,40	1,15	1,39	–	4,66	–	1,00
	3	2,48	1,10	–	–	–	2,60	–	–	–	4,62
As+ Hg+ Pb	1	–	–	2,40	2,53	1,75	1,76	–	6,30	–	–
	2	1,82	1,20	1,30	1,01	1,44	–	4,32	3,52	3,36	3,73
	3	0,90	1,64	2,19	3,81	4,17	1,57	1,95	1,73	1,71	1,43

Cd+	1	1,83	2,42	1,01	–	–	1,30	6,35	1,19	–	3,47
Hg+	2	1,15	1,13	–	1,16	1,59	–	2,26	–	1,16	4,23
Pb	3	0,92	3,88	3,95	3,32	8,81	4,60	4,37	5,11	3,76	1,20
4 ТМ	1	–	–	–	3,77	3,31	2,84	4,59	5,99	–	2,60
	2	1,95	2,35	28,74	65,42	2,19	5,32	–	1,29	–	3,64
	3	1,89	22,47	11,99	20,79	4,39	–	–	–	2,35	0,97

Таблица 3

Частота дрозодил со слипшимися крыльями ($\times 10^{-3}$ особей)

ТМ	F	ДУ									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
As	1	–	–	0,37	0,45	–	1,27	0,55	0,86	0,70	–
	2	1,69	–	–	–	–	1,15	–	1,40	2,50	–
	3	3,11	6,20	2,21	5,72	–	1,43	17,17	9,16	6,67	0,56
Cd	1	–	0,55	0,90	–	2,79	0,65	2,25	0,77	1,94	0,76
	2	1,98	2,87	4,20	6,64	2,83	3,61	1,76	–	2,82	1,87
	3	2,68	0,87	1,45	1,71	–	1,26	4,50	1,86	4,71	–
Pb	1	9,47	1,72	–	–	6,07	2,93	0,72	2,19	0,66	–
	2	2,22	5,59	–	3,76	3,99	13,86	2,69	–	2,79	1,60
	3	5,41	8,82	4,97	6,73	1,32	7,31	5,78	–	2,26	8,72
Hg	1	–	4,49	1,06	0,97	1,67	1,09	1,39	0,76	1,02	1,72
	2	1,36	5,59	13,05	–	4,88	4,78	–	4,66	0,78	8,72
	3	6,97	5,38	8,84	2,99	2,43	2,03	0,99	1,02	5,18	3,49
As+ Cd	1	5,96	3,93	1,45	3,48	6,10	–	1,46	–	7,97	2,09
	2	3,51	2,76	3,64	5,70	5,37	9,78	3,52	–	1,27	5,45
	3	1,76	5,81	2,45	2,82	3,53	1,51	1,71	1,50	2,76	4,33
As+ Hg	1	14,75	3,51	1,09	2,61	1,17	–	1,32	6,94	8,32	–
	2	6,49	3,58	4,66	11,45	1,95	7,88	2,52	14,01	7,61	5,41
	3	2,74	3,02	–	1,70	6,63	0,84	10,09	7,95	11,65	9,54
As+ Pb	1	1,11	–	0,90	0,94	–	–	2,99	1,20	–	–
	2	2,03	5,31	14,01	6,37	15,00	5,50	2,78	–	3,41	6,37
	3	8,60	4,08	8,76	6,94	8,30	2,74	7,42	4,45	4,00	3,63
Cd+ Pb	1	–	1,25	1,94	8,17	2,78	10,64	0,86	19,90	3,96	15,51
	2	9,55	3,27	2,69	–	5,45	2,99	3,25	2,33	4,34	2,83
	3	0,82	3,39	10,02	6,01	9,69	3,83	1,22	7,90	5,75	2,93
Cd+ Hg	1	–	–	5,53	–	1,41	–	3,57	6,68	3,25	6,42
	2	1,39	3,59	11,96	7,83	11,75	4,28	13,51	3,38	2,17	13,29
	3	–	0,96	–	–	–	6,63	8,04	6,46	3,34	3,34
Hg+ Pb	1	–	–	4,46	3,82	–	–	1,42	7,16	2,27	–
	2	5,46	4,01	5,70	3,07	2,92	2,08	1,50	4,74	1,72	–
	3	3,96	1,78	5,22	5,96	0,70	–	4,82	15,08	1,53	8,29
As+ Cd+ Hg	1	–	1,52	4,17	8,50	3,98	1,14	3,05	3,09	6,75	2,90
	2	1,21	1,17	1,93	5,20	2,06	1,17	1,56	1,19	4,83	3,19
	3	2,45	11,20	7,84	8,84	8,95	4,82	2,05	7,38	–	2,99
As+ Cd+ Pb	1	–	0,95	1,31	1,13	2,98	1,24	1,89	–	–	1,37
	2	2,99	–	1,26	1,40	5,76	8,33	0,89	3,73	1,78	–
	3	4,97	5,50	4,61	2,43	2,69	13,02	3,50	4,66	3,84	1,54
As+ Hg+ Pb	1	–	1,16	4,80	2,53	7,01	1,76	2,55	6,30	–	–
	2	1,82	1,20	5,18	2,01	5,74	–	10,63	8,80	6,72	2,48
	3	0,90	6,56	2,92	3,81	9,17	0,78	8,78	5,19	1,71	10,01
Cd+ Hg+ Pb	1	1,83	–	–	2,49	1,22	5,56	6,35	3,56	14,31	8,67
	2	1,15	1,13	6,55	3,48	3,19	1,72	12,40	7,74	2,31	8,35
	3	4,60	2,94	3,18	4,43	15,42	2,76	4,37	1,70	2,82	6,01
4 ТМ	1	1,52	–	–	–	–	1,42	6,88	5,99	–	–
	2	0,98	–	2,87	4,67	2,19	6,65	1,30	–	–	1,21
	3	11,36	2,25	2,40	–	2,19	4,48	0,99	7,96	2,35	6,78

Кроме указанных выше терат, обнаружено небольшое количество особей с другими аномалиями крыльев: с загнутыми кверху при действии As, Cd и Pb в отдельности, с крестообразно наложенными друг на друга в комбинации Pb+Cd и с крыльями, расположенными под прямым углом к телу, при действии As+Cd и Pb.

Итак, изученные ТМ оказывают на *D. melanogaster* тератогенное действие, которое по своей природе чаще является ненаследственным. Однако выделены и наследственные тераты. В частности, получены линия с короткими крыльями и две аллелемрофные линии с зачаточными крыльями.

Частоты аномальных особей практически не зависят от концентрации и кратности воздействия тератогенного фактора. Зачастую при десятикратном превышении ДУ частота aberrантных особей может быть ниже, чем при 1ДУ содержания этого ТМ. Сочетания изучаемых ТМ также не повышают частоты аномалий. Более того, при совместном действии всех четырех ТМ эти величины в целом ниже, чем при действии каждого металла по отдельности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2. 1078-01. Минздрав России. – М., 2002. – 216 с.
2. Мануйлов И.М., Магулаева А.А. Летальные тераты у *Drosophila melanogaster* при избыточном содержании в среде некоторых тяжелых металлов // Вестник МГОУ. Серия «Естественные науки», 2009. – № 2. – С. 53-56.
3. Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – Минск, 1967. 328 с.
4. Lindsley D. L., Grell E.H. Genetic Variation of *Drosophila melanogaster*. Mutations. Carnegie Inst. of Washington Publ., 1968. № 627. – P. 3-284.
5. Sivertzev-Dobzhansky N.P., Dobzhansky Th. Deficiency and duplications for the gene bobbed in *Drosophila melanogaster* // Genetics, 1933, V. 18. – P. 173-192.

I. Manujlov, A. Magulaeva, A. Magulaev

ANOMALIES OF WINGS AT *DROSOPHILA MELANOGASTER* AT ACTION OF ARSENIC, CADMIUM, MERCURY AND LEAD

Abstract. Are studied terats of wings, caused by action of arsenic, cadmium, mercury and lead in various combinations in three generations. Anomalies of wings are described, their frequencies depending on concentration and combinations of heavy metals are established, the genetic nature of aberrants is revealed.

Keywords: heavy metals, *Drosophila melanogaster*, modification of wings.