

## ЛЕТАЛЬНЫЕ ТЕРАТЫ У *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПРИ ИЗБЫТОЧНОМ СОДЕРЖАНИИ В СРЕДЕ НЕКОТОРЫХ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ\*

**Аннотация:** Изучено тератогенное влияние на *Drosophila melanogaster* ионов кадмия, мышьяка, ртути и свинца в различных комбинациях. Их содержание в питательной среде превышало допустимые уровни до 10 раз. Воздействие тяжелых металлов (ТМ) исследовано в трех поколениях. В работе описаны летальные тераты, установлены их частоты и зависимость от концентрации и комбинации ТМ.

**Ключевые слова:** летальные тераты, тератогенез, *Drosophila melanogaster*, тяжелые металлы.

Тератогенез – возникновение уродств как в результате ненаследственных изменений в период зародышевого развития, вызванных повреждающим действием внешних факторов (тератогенов), так и в результате наследственных изменений – мутаций [1]. Тераты животных и человека обычно называют уродствами. Тератогенным эффектом обладают многие химические вещества, в том числе некоторые тяжелые металлы (ТМ). В частности, это отмечено для мышьяка [6]. Ранее нами было установлено, что свинец при однократном воздействии на дрозофилу вызывает разнообразные аномалии, касающиеся, в первую очередь, формирования крыльев [3]. Оказалось, что высокие дозы свинца приводят к деформациям крыльев: при 6-10-кратном превышении допустимого уровня (ДУ) содержания металла в среде частота таких аномалий  $5 \times 10^{-5}$ , тогда как в контроле на уровень ниже –  $6 \times 10^{-6}$ .

Таким образом, *Drosophila melanogaster* может быть использована для изучения действия различных ТМ на ее биологические показатели. Тем более, что данный вид имеет ряд преимуществ над другими объектами: короткий срок развития, высокую плодовитость, возможность содержания на искусственных питательных средах, хорошо выраженный половой диморфизм, малое число хромосом [5].

В силу этих обстоятельств для изучения тератогенного действия ТМ выбрана дрозофила лабораторной линии *Berlin*. Мушки выращивались на средах, содержащих ТМ (Cd, As, Hg, Pb) по отдельности и во всех возможных комбинациях в трех поколениях. В соответствии с «Гигиеническими требованиями безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов» СанПиН 2.3.2.1078-01 [2002], допустимые уровни (ДУ) содержания этих ТМ в овощах и фруктах составляют 0,03, 0,2, 0,02 и 0,5 мг/кг соответственно. Нами были взяты ДУ фруктов и овощей, поскольку дрозофила питается продуктами их брожения. Для приготовления растворов использовали нитраты кадмия, ртути, свинца и арсенат натрия. Растворы готовили в такой концентрации, чтобы питательные среды содержали 1-10 ДУ ТМ.

При проведении эксперимента была использована одна из методик, предлагаемых для разведения мушек [4], с некоторыми коррективами. На 50 мл раствора соли (дистиллированной воды) брали 34 г картофеля, 0,500 г агар-агара, 15,500 г сахара. Каждый вариант опыта закладывался в десяти повторностях. Морфологический анализ потомства проводился по многим параметрам. В данном сообщении приводятся примеры летальных терат (табл.)

Наиболее часто встречающейся летальной тератой у дрозофилы является вздутие

\* © Мануйлов И.М., Магулаева А.А.

брюшка вследствие заполнения гемолимфой. Степень выраженности данного признака варьирует. В большинстве случаев наблюдается равномерное увеличение в объеме всего брюшка. Вместе с тем имеют место некоторые исключения. Так, у самки, полученной в третьем поколении, при действии Hg, был вздут лишь кончик брюшка. У другой самки из третьего поколения, при одновременном воздействии солями Cd+As+Hg в концентрации 4 ДУ, была увеличена в размерах нижняя половина брюшка, а конец его был закруглен. При наличии в питательной среде солей Pb+As+Cd 8 и 9 ДУ и As 10 ДУ вывелись три мушки, для которых, помимо вздутия, было характерно полное или частичное отсутствие стернитов и волосков на внутренней поверхности брюшка. Интересно, что на личиночной стадии подобной аномалии не наблюдалось.

Данная аберрация встречается среди самок и самцов (всего 120 самок, 52 самца) во всех трех поколениях как при действии ТМ по отдельности, так и при их различных сочетаниях. При этом в первом поколении количество мух со вздутым брюшком меньше, чем во втором и в третьем. Исключение составляют варианты опыта по воздействию солями Cd и As+Cd, когда аномальных особей было больше в F<sub>1</sub>, чем в F<sub>2</sub> и F<sub>3</sub>. Стоит отметить, что в контрольной закладке выявлен лишь один самец со вздутым брюшком в F<sub>2</sub>.

Наибольшее число мух с увеличенным брюшком (35) встречается среди особей, подвергшихся влиянию ионов ртути, с частотой  $125 \times 10^{-5}$ , достоверно превышающей результаты воздействия солей других металлов ( $p = 0,9999$ ). Немало таких аберрантов обнаружено при избыточном содержании в среде ионов кадмия (частота их встречаемости составляет  $62 \times 10^{-5}$ ).

Коэффициент корреляции между концентрацией и частотой данной аберрации для ртути равна  $r = 0,39$ , а для кадмия  $r = 0,72$ .

Отсутствие четкой зависимости частоты встречаемости особей со вздутым брюшком от кратности воздействия ТМ свидетельствует о том, что ионы металлов накапливаются в организме мушек в несущественных количествах.

Летальные аберранты у *D. melanogaster*

ТМ	По- коле- ние	Всего особей	Вздутие брюшка		Деформир. тело		Опухоли на теле		Лишний глаз		Бледно- оранж. тело	
			Кол- во	Час- тота	Кол- во	Час- тота	Кол-во	Часто- та	Кол-во	Часто- та	Кол-во	Часто- та
Cd	F <sub>1</sub>	17384	21	120*								
	F <sub>2</sub>	9602	3	31								
	F <sub>3</sub>	13539	1	7								
As	F <sub>1</sub>	19342	2	10	2	10	1	7				
	F <sub>2</sub>	9757	6	61			1	5				
	F <sub>3</sub>	7570	4	53								
Pb	F <sub>1</sub>	11750	3	26								
	F <sub>2</sub>	6149										
	F <sub>3</sub>	8003	1	12							1	16
Hg	F <sub>1</sub>	9403	3	32								
	F <sub>2</sub>	8187	26	318								
	F <sub>3</sub>	10319	6	58								
As+Hg	F <sub>1</sub>	7622	1	13	1	13						
	F <sub>2</sub>	9646	7	73								
	F <sub>3</sub>	9203	4	43								
As+Cd	F <sub>1</sub>	8463	8	95								
	F <sub>2</sub>	11759	2	17								
	F <sub>3</sub>	8338	2	24								
As+Pb	F <sub>1</sub>	8500										
	F <sub>2</sub>	10633	1	9								
	F <sub>3</sub>	8155	5	61	1	12						
Pb+Cd	F <sub>1</sub>	7433					1	12				
	F <sub>2</sub>	8776	4	46								
	F <sub>3</sub>	9735	11	113								

Pb+Hg	F <sub>1</sub>	7223	4	55						
	F <sub>2</sub>	8133	6	74						
	F <sub>3</sub>	9984	1	10	2	20				
Hg+Cd	F <sub>1</sub>	7437	1	13						
	F <sub>2</sub>	7301	1	14						
	F <sub>3</sub>	7849	2	25	1	13				
Pb+Hg+Cd	F <sub>1</sub>	7474								
	F <sub>2</sub>	7464	1	13	1	13				
	F <sub>3</sub>	10499	2	19						
Pb+As+Hg	F <sub>1</sub>	6672	2	30						
	F <sub>2</sub>	7757	1	13						
	F <sub>3</sub>	10118	1	10						
Pb+As+Cd	F <sub>1</sub>	7064	2	28						
	F <sub>2</sub>	8836	1	11						
	F <sub>3</sub>	7563								
Cd+As+Hg	F <sub>1</sub>	8033	1	12						
	F <sub>2</sub>	8075	10	124						
	F <sub>3</sub>	8108	1	12						
4 ТМ	F <sub>1</sub>	5606								
	F <sub>2</sub>	8714	7	80	1	11				
	F <sub>3</sub>	8698	6	69				1	11	
Контроль	F <sub>1</sub>	4906								
	F <sub>2</sub>	2877	1	35						
	F <sub>3</sub>	6200								
Итого		421859	172		9		3		1	1

• – Здесь и далее значения частот нужно умножить на 10–5

Помимо описанной аномалии, в ходе эксперимента были зафиксированы мушки с деформированными телами. Наиболее легкая форма такой аберрации выявлена у двух особей (самки и самца), полученных в F<sub>3</sub> при воздействии Pb+Hg в концентрации 9 и 10 ДУ. У них на границе третьего и четвертого тергитов наблюдалось сужение, и поэтому брюшко казалось перетянутым. У одной самки, выделенной в F<sub>3</sub> в варианте опыта 3 ДУ Hg+Cd, брюхо закручено по часовой стрелке. Выделены два самца со свернутыми головами. У одного из них (получен в F<sub>2</sub> в варианте опыта 3 ДУ Pb+Hg+Cd) грудь располагалась под углом к брюшку, кроме того, наблюдалось отсутствие некоторых щетинок с левой стороны торакса: гуморальных, супраалярных, презутуральных.

В среде с трехкратным превышением ДУ мышьяка выявлен самец с «обрубленным» брюшком, левая сторона которого была покрыта коричневыми пятнами. Помимо деформации брюшка, у самца имелись аномалии крыльев: дистальная часть левого крыла свернута в трубочку поперек и отставлена в сторону; правое же раздвоено на две узкие полоски от основания.

У самца, полученного при 6 ДУ As+Pb в F<sub>2</sub>, брюшко было подвернуто кольцом вовнутрь, грудь свернута влево, голова располагалась не в одной плоскости с грудью, а перпендикулярно ей. Левое крыло у этой мушки прилипло к брюшку. Наблюдалось отсутствие щетинок: одной правой гуморальной, правых презутуральной, задней посталярной и средней орбитальной, левых передней и средней орбитальных. На груди посередине торакса имела темная продольная полоска.

При воздействии 9 ДУ As+Hg в F<sub>1</sub> получена самка, брюшко которой повернуто к груди под тупым углом, а конечности смещены к центру торакса с внутренней стороны. Правая конечность первой пары редуцирована и представляет собой небольшую культю; левая конечность третьей пары приставлена к телу; правая конечность второй пары отсутствует. Левое крыло дрозофилы узкое, плохо раскрытое и прилипло к телу. Торакс сморщен на границе со щитком. Наблюдается отсутствие верхнего непарного дорсально-го глазка.

В F<sub>2</sub> при нахождении в среде всех четырех элементов одновременно в концентрации 1 ДУ выявлена самка, голова которой свернута вправо. Щиток нечетко обособлен от

торака и имеет грушевидную форму. Жилкование крыльев нормальное. Сами крылья начинаются у основания скутеллюма. Слева торакс наполовину отделен от туловища и образует как бы козырек. Часть торакса под «козырьком» покрыта тонким хитиновым слоем, и на ней имеются некоторые щетинки и волоски. Щетинки правой стороны груди в норме, а на левой отсутствуют обе гуморальные, нотоплевральные, презутуральная, супрааларные, передняя посталарная. Все щетинки щитка и головы в норме.

В ходе эксперимента было зафиксировано три мухи с опухольми на теле. У одного самца (10 ДУ As) на левой стороне брюшка наблюдалась меланотическая опухоль. У самки ( $F_3$ , 2 ДУ Cd) – был увеличен анус, на котором имелось маленькое опухолевидное образование. У самца ( $F_3$ , 5 ДУ As+Pb) на правой стороне брюшка обнаружена опухоль, светлая сверху, темная снизу; крылья же были неправильной формы, морщинистые, растопыренные.

В  $F_2$  при 7 ДУ Pb зафиксирован самец с бледно-оранжевым телом, с удлинённым брюшком цилиндрической формы и еле заметными тергитами.

Еще один интересный самец обнаружен при совместном воздействии всех четырех металлов. Рядом с левым глазом, ближе к хоботку, располагался третий глаз размером в 1/3 нормального, того же цвета и имеющий фасеточное строение.

Все описанные выше мушки отнесены к летальным тератам, т.к. погибли в первые часы (вздутие брюшка) или в первые сутки после вылета (остальные аномалии.) Получено достаточно большое количество особей с вздутым брюшком, что позволяет с уверенностью говорить о летальном эффекте данного признака. Что же касается остальных аномалий, то такой уверенности нет ввиду их чрезвычайной редкости. Возможно, при большем количестве абберантов каждого типа некоторые из них были бы жизнеспособными.

В любом случае полученные в ходе эксперимента данные позволяют сделать вывод, что ионы кадмия, ртути, свинца и мышьяка оказывают на дрозофилу явно выраженный тератогенный эффект.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Биологический энциклопедический словарь. // Гл. ред. М.С. Гиляров. М.: Советская энциклопедия, 1989. 864 с.
2. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2. 1078-01. Минздрав России. М.: ЗАО «РИТ ЭКС-ПРЕСС», 2002. 216 С.
3. Магулаева А.А. Терато- и мутагенное действие ионов свинца на *Drosophila melanogaster*. // Актуальн. пробл. современ. биол. Астрахань: АГУ, 2005. С. 184-188.
4. Медведев Н.Н. Практическая генетика. М.: Наука, 1966. 238 с.
5. Полуэктова Е.В., Митрофанов В.Г., Бурыченко Г.М., Мяснянкина Е.Н., Бакулина Э.Д. Дрозофила *Drosophila*. // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 128-146.
6. Рцхиладзе В.Г. Мышьяк. М.: Металлургия, 1969. 189 с.

I.M. Manuilov, A.A. Magulaeva

#### LETHAL TERATS AT DROSOPHILA MELANOGASTER AT THE SUPERFLUOUS MAINTENANCE IN THE ENVIRONMENT OF SOME HEAVY METALS

*Abstract:* Teratogenic influence on *Drosophila melanogaster* ions of cadmium, arsenic, mercury and lead in various combinations has been studied. Their maintenance in nutrient mediums exceeded admissible levels up to 10 times. Influence of heavy metals (HM) has been studied in three generations. In work are described lethal terats, their frequencies and dependence on concentration and combination HM are established.

*Key words:* teratogenic influence, nutrient mediums, heavy metals, admissible levels, lethal terats, mutation, aberration.