

ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ТЕРАГЕРЦОВОГО ОБЛУЧЕНИЯ СТРЕССИРОВАННЫХ САМОК ДРОЗОФИЛ НА ПЛОДОВИТОСТЬ И ДИНАМИКУ РАЗВИТИЯ ПОТОМСТВА

Федоров В.И., Вайсман Н.Я.¹, Немова Е.Ф.

Институт лазерной физики СО РАН,
630090, Россия, Новосибирск, проспект Лаврентьева 13/3, *E-mail:* vif41@mail.ru

¹Институт цитологии и генетики СО РАН,
630090, Россия, Новосибирск, проспект Лаврентьева 10, *E-mail:* weisman@bionet.nsc.ru

ВВЕДЕНИЕ

На рубеже 50-х-60-х годов прошлого века была атмосфера «предвкушения учеными всего мира слияния физической и биологической наук» [1]. Слияния не произошло. Слишком разные понятийные аппараты у этих наук. Зато возникла проблема восприятия научным сообществом результатов исследования слабых и сверхслабых воздействий, чего не могло произойти в те годы. Эта проблема обусловлена неспособностью современной физики объяснять неклассические вещи, будь то свойства воды, реакция живых систем на низкоинтенсивные электромагнитные и магнитные поля, или физические процессы, генерируемые в живых системах. На наш взгляд, основной причиной этого является отсутствие в физике понятийного аппарата адекватного приложения существующих теоретических представлений к сложным неоднородным системам, коими являются любые биологические объекты. На несостоятельность основных физических доктрин для такого понимания обратила внимание и С.С.Попова [2]. Ситуация напоминает ту, что сложилась к началу XIX века. Здесь уместно привести слова знаменитого французского врача и физиолога М.Ф.К. Биша: "Можно вычислить возвращение кометы, сопротивление для жидкости, протекающей по неподвижному каналу, скорость полета снаряда и прочее, но вычислять вместе с Борелли силу мускул, с Кейлем скорость обращения крови, с Джьюрином, Лавуазье и другими количество воздуха, входящего в легкие, это то же, что на зыбком песке строить здание, прочное само по себе, но падающее немедленно вследствие отсутствия прочного фундамента... Из этого легко заключить, что наука об органических телах должна употреблять совершенно иные приемы, нежели наука о телах неорганических. Она требует употребления, так сказать, другого языка, ибо бо́льшая часть терминов, переносимых нами из наук физических в науку о животных и растениях, рождает в нас понятия, которые вовсе не вяжутся с явлениями, рассматриваемыми последнею". Цит. по [3]. Замечательно, что этот призыв против некритического использования в биологии методов и концепций из других областей знаний звучит вполне современно и сегодня.

Типичным примером такого состояния является трактовка физиками результатов исследования биологических эффектов терагерцового излучения. Доминирует представление о нагреве объекта как непосредственном физическом механизме наблюдаемого эффекта [4,5]. Такая трактовка обусловлена тем, что нагрев представляется наиболее очевидным механизмом воздействия излучения терагерцового диапазона и тем, что «современные методы не подходят для выявления нетепловых эффектов, поэтому выявить их сложно, если не невозможно» [4]. Однако наиболее очевидное далеко не всегда оказывается единственно верным [6]. Ниже приведены результаты, демонстрирующие, что эффекты, наблюдаемые при исследовании воздействия терагерцового излучения, прямо противоположны тем, которые имеют место при нагреве таких же объектов (см. таблицу).

Конечно, это не может стать несомненным доказательством, поскольку поставленные эксперименты не связывают наблюдаемые эффекты с физическими механизмами воздействия. Однако, тем не менее, эта таблица даёт пищу для размышлений.

Таблица. Разнонаправленность феноменов, наблюдаемых при нагревании и после терагерцового облучения одних и тех же биологических объектов

Объект	Феномен, наблюдаемый при нагревании	Лит. ссылка	Феномен, наблюдаемый после терагерц. облучения	Лит. ссылка
Эритроциты	Уменьшение осмотической резистентности мембран при лихорадке	7	Повышение сниженной резистентности мембран, вызванной механическим сдавливанием эритроцитами друг друга при совместном нахождении в пробирке в несколько слоёв	8
Семена пшеницы	Замедление процесса прорастания семян при повышении температуры выше оптимальной	9	Ускорение процесса прорастания элитных семян без влияния на прорастание семян 3 сорта	10
	Снижение всхожести семян	11	Повышение всхожести и стрессоустойчивости растений	13
	Резкое изменение устойчивости семян к различным внешним воздействиям	12		

В экспериментах *in vitro* с биомолекулами или с клетками вклад нагрева в биоэффект исключить трудно, хотя при энергии фотона $2 \cdot 10^{-22} - 1.3 \cdot 10^{-20}$ Дж, характерной для терагерцовой области [14], нагрев биологического объекта проблематичен. Однако 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 состояния имаго облучённых личинок, свести объяснение результата эксперимента к нагреву крайне некорректно. Потому такие эксперименты, с нашей точки зрения, 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. В частности, показано, что терагерцовое излучение мощностью 60 и 23 мВт на частотах 2,5 и 0,67 ТГц при времени экспозиции от 1,5 до 2,5 ч вызывает стерильность и индукцию рецессивных летальных мутаций в первом поколении дрозофил [15]. Однако низкоинтенсивное излучение мощностью 1 мВт на частоте 0,89 ТГц при времени экспозиции 45 мин вызывает увеличение плодовитости дрозофил и повышение выживаемости их первого поколения [16]. Показано также, что низкоинтенсивное 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 [17].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данной работе исследовали влияние терагерцового излучения на численность и динамику развития потомства дрозофил. Облучение является стрессом. Стрессорные факторы разнообразной природы вызывают изменение статуса эндокринной системы, влияющее на состояние яйцеклеток, что отражается на плодовитости и оогенезе [18]. В связи с этим самок дрозофил ($n=200$) линии Oregon R из фонда Института цитологии и генетики СО РАН предварительно стрессировали помещением в ограниченное пространство без пищи на 2,5 ч, чтобы вычлнить вклад терагерцового излучения. Часть мух ($n=100$) облучали в течение в течение последних 30 мин стресса широкополосным импульсным низкоинтенсивным лазерным источником в диапазоне 0,6-2,2 ТГц при длительности импульса 1 пс и мощности в импульсе 8,5 мВт с частотой повторения импульсов 76 МГц и модуляцией с частотой 1 КГц. Подробное описание источника дано в работе [19].

После этого облученных и необлученных мух помещали в стандартные лабораторные условия и подсаживали самцов. Через 2 дня взрослых мух отсаживали.

Оценивали влияние стресса и облучения на плодовитость и динамику развития потомства F1 до стадии имаго. Результаты сравнивали с лабораторным контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 (рисунок 1а). В итоге суммарное число вылетевших самцов и самок оказалось практически сходным: 714 и 710 особей, соответственно.

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 (рис. 1б).

Количество самцов, вылетевших на 11-й день от начала спаривания, превышало количество вылетевших самок в три раза (как и в лабораторном контроле) (рис. 1б), однако по численности оно было меньше, чем в лабораторном контроле (на 15 % у самцов и на 20 % у самок) (рис. 2). 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 (рис. 2). 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 (рис. 2).

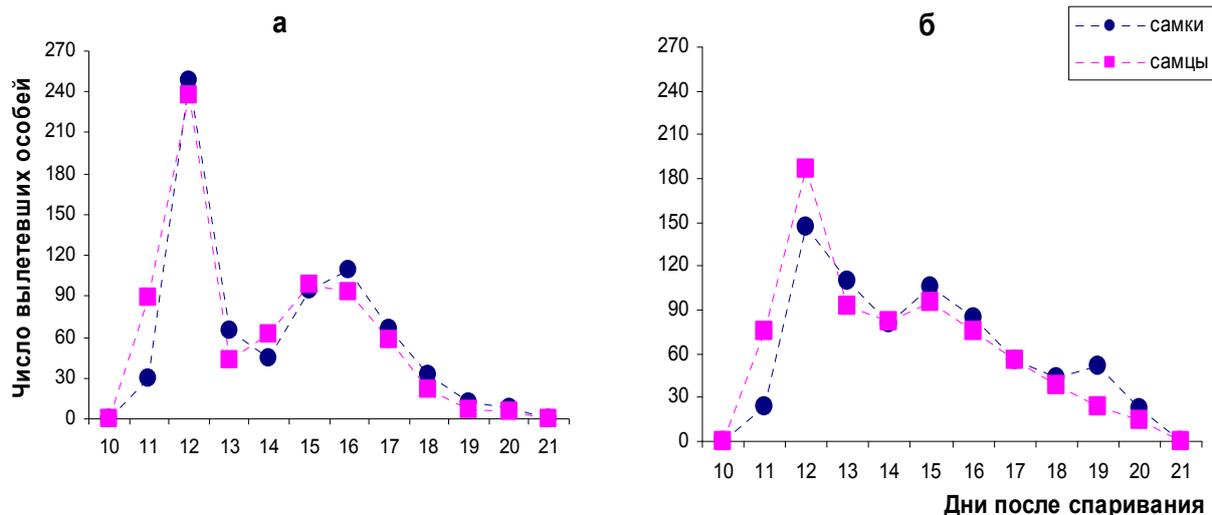


Рис. 1. Динамика созревания до стадии имаго потомств F1 лабораторного контроля (а) и стрессированных мух (б). Пунктиром показаны линии тренда.

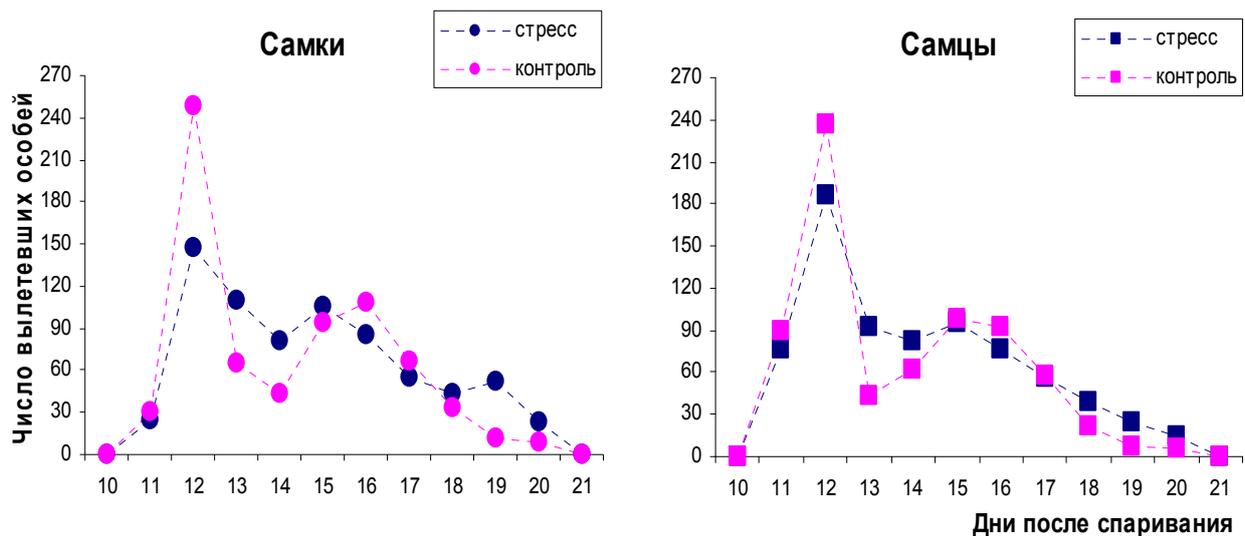


Рис. 2. Сравнение численности и динамики вылета имаго в потомстве стрессированных мух с лабораторным контролем.

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 втрое 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 (рис. 3).

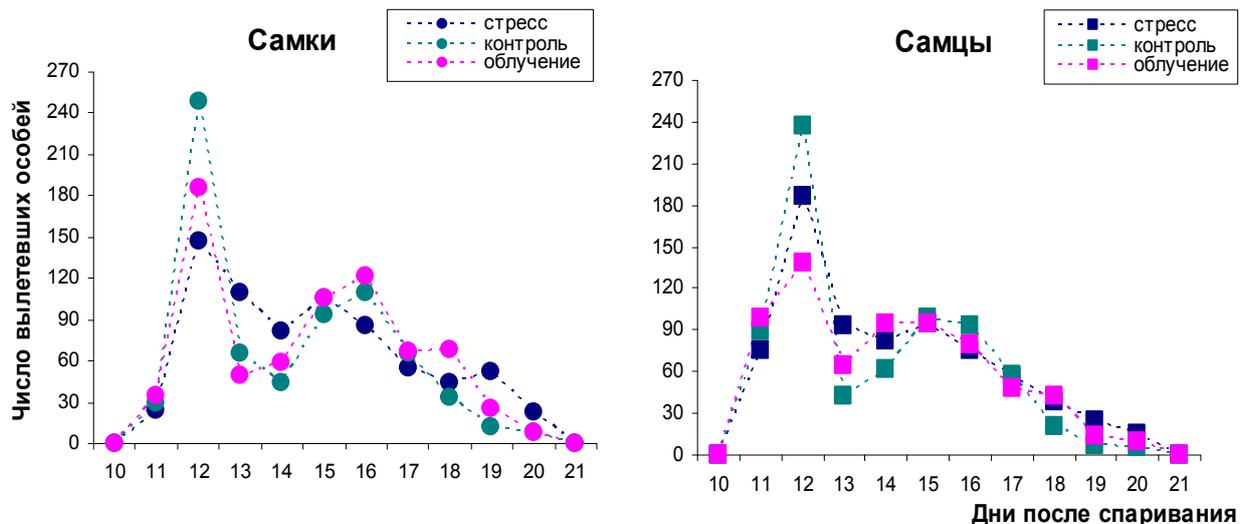


Рис. 3. Динамика развития самцов и самок в потомстве контрольных и подопытных мух.

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 (рис. 3). 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 (рис. 3). 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 РЕЗУЛЬТАТОВ

Терагерцовое облучение стрессированных самок повлияло на общую численность потомства F1, а также на созревание и динамику вылета имаго, проявление 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 излучения 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 [20,21]. Ответ на кратковременное стрессовое воздействие у дрозофилы опосредован действием биогенных аминов и гормонов [22]. Не исключено участие и других классов биологически активных молекул [21].

Изменение гормонального статуса самок под воздействием стресса направленно влияет на репродуктивную функцию [18] 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 активизации выполняет свои функции в зиготе после оплодотворения [23,24]. Стресс у самок отражается на скорости созревания, численности и морфогенетических характеристиках ооцитов [18,25] 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 [21,25,26]. 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 [27].

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 [23,24]. 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 низкоинтенсивное 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. Поэтому свести объяснение полученных результатов к нагреванию неоплодотворенных самок представляется некорректным. Дальнейшие исследования на модельных животных, возможно, помогут расшифровать непосредственные механизмы воздействия терагерцового излучения на репродуктивные признаки.

INFLUENCE OF TERAHERTZ IRRADIATION OF STRESSED FRUIT FLIES ON FERTILITY AND DEVELOPMENT DYNAMICS OF OFFSPRING

V.I.Fedorov, N.Ya.Weisman, E.F.Nemova

Institute of Laser Physics SB RAS, Novosibirsk, Russia
Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, E-mail: vif41@mail.ru

Литература

1. Yang C.N.F. // Preface to: Ling G.N. A Physical Theory of the Living State: the Association-Induction Hypothesis. -Waltham, Mass: Blaisdell Publ. Co., 1962, p. ix.
2. Попова С.С. // Философия науки, 2009, № 2 (41), с. 79-98.
3. Малыгин А.Г. Симметрия сети реакций метаболизма. - М.: Наука, 1984, 112 с.
4. Wilmink G.J., Grundt J.E. // J. Infrared, Millimeter and Terahertz Waves, Published online 07 June 2011.
5. Hintzschea H., Stoppera H. // Critical Rev. in Environ. Sci. and Technol., <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10643389.2011.574206#tabModule>
6. Попова С.С. // Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2011, № 3, с. 53-61.
7. Мышкина А.К. Новый справочник терапевта. – М.: Феникс, 2009, 480 с.
8. Федоров В.И. // Биомедицинская радиоэлектроника, 2011, № 2, с. 17-27.
9. Roberts E.H. Temperature and seed germination – Plants and Temperature. Cambridge: Comp. Biol. Ltd., 1988, p. 109-132.
10. Федоров В.И., Бахарев Г.Ф. // Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2010, № 2, с. 25-35.
11. Верхотуров В.В. Физиолого-биохимические процессы в зерновках ячменя и пшеницы при их хранении, прорастании и переработке. - Автореф. дис. докт. биол. н., М, 2008.
12. Аксенов С.И., Аскоченская Н.А., Головина Е.А. // Физиология растений, 1977, т. 24, №6, с. 1251-1260.
13. Федоров В.И., Лихенко И.Е. // Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2011, № 3, с. 62-69.
14. Smye S. M., Chamberlain J. M., Fitzgerald A. J., Berry E., Physics in Medicine and Biology, 2001, v. 46, p. R101- R112.
15. Mi Zhengu Yu // Infrared Phys. 1989, v. 29, № 2-4, p. 631-636.
16. Залюбовская Н.П., Чепель Л.М., Шахбазов В.Г. // Вестн. Харьк. госуниверситета, 1970, № 39, сер. биол., вып. 2, с. 42-44.
17. 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.
18. Груntenко Н.Е. // Евраз. энтомол. журн., 2008, т. 7, прил. 1, с. 3-46.
19. Анцыгин В.Д., Мамрашев А.А., Николаев Н.А., Потатуркин О.И. // Автометрия, 2010, т. 46, № 3, с. 110-117.

20. Вайсман Н.Я., Голубовский М.Д. // Докл. Акад. Наук, 2008, т. 419, № 1, с. 130-135.
21. Мелехова О.П. Свободнорадикальные процессы в эпигеномной регуляции развития – М.: Наука, 2010, 324 с.
22. Раушенбах И.Ю. // Генетика, 1997, т.33, № 8, с. 1110-1118.
23. Жимулев И.Ф. // Соросовский образовательный журн. 1997, т. 3, №12, с. 17-22.
24. Серов О.Л. Генетика развития. Новосибирск: Новосибирский госун-т, 1998, 115 с.
25. Sizemore R.C. // Cell Develop. Biol., 2012, v. 1, № 1. p. 1-2.
26. Flatt Th., Tu M.P., Tatar M. // BioEssays, 2005, v. 27, № 10, p. 999–1010.
27. Федоров В.И. // Миллиметровые волны в биологии и медицине, 2011, № 3, с. 5-17.