

Динамика дисгенной стерильности потомства из экспериментальных хронически облучаемых в малых дозах популяций дрозофилы

© 2021. И. Н. Юранёва¹, к. б. н., директор,

В. Г. Зайнуллин², д. б. н., профессор, зав. лабораторией,

¹Сыктывкарский государственный университет им. Питирима Сорокина,
167001, Россия, г. Сыктывкар, Октябрьский проспект, д. 55,

²Институт агробиотехнологии Коми научного центра
Уральского отделения РАН,

167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Ручейная, д. 27,
e-mail: yuraneva@mail.ru, zainullin.v.g@yandex.ru

Изучена реакция на хроническое облучение в малых дозах экспериментальных (перекрывающихся) популяций дрозофилы, полученных от линий дикого типа, различающихся по содержанию мобильных генетических элементов (МГЭ). Показано, что хроническое облучение (0,25 мГр/ч) на протяжении 30 поколений приводит к разным эффектам дестабилизации генома, проявляющейся в изменении показателей приспособленности. На фоне хронического облучения происходит изменение транспозиционной активности МГЭ. Показано, что у потомков дисгенных скрещиваний с самцами из испытуемых популяций уровень доминантных леталей выше, чем при недисгенных скрещиваниях. Эффективность формирования радиоустойчивости, оценённая по реакции на острое облучение в дозе 30 Гр, во многом зависит от цитотипа – эффект радиоадаптации не очевиден для популяции с *H-E* цитотипом. Феномен радиоадаптации был показан для популяции *Canton-S*, характеризующейся *I-R* системой гибридного дисгенеза.

Ключевые слова: дрозофила, экспериментальные популяции, хроническое облучение, гибридный дисгенез.

Dynamics of disgenic sterility of the offspring from the *Drosophila* populations chronically exposed to low doses irradiation

© 2021. I. N. Yuraneva¹ ORCID: 0000-0001-8287-8105¹

V. G. Zainullin² ORCID: 0000-0003-3343-9012²

¹Pitirim Sorokin Syktyvkar State University,
55, Oktyabrsky Prospekt, Syktyvkar, Russia, 167001,

²Institute of Agrobiotechnology Komi Science Centre
of the Ural Branch of RAS,

27, Rucheynaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,
e-mail: yuraneva@mail.ru, zainullin.v.g@yandex.ru

One of the factors influencing the genome stability is mobile genetic elements. The scale of genotypic variability resulting from transpositions of mobile genetic elements is quite large, so it can be assumed that they make a significant contribution to the evolutionary processes. For example, in natural populations of *Drosophila melanogaster*, sharp changes in mutability level and fitness indices were found due to the introduction of mobile genetic elements into genes. The reaction to chronic irradiation in small doses of experimental (overlapping) populations of *Drosophila* obtained from wild-type lines *Canton-S* and *Oregon-R*, differing in mobile genetic elements of the hybrid dysgenesis system, was studied. Laboratory line *CyL/Pm* was used as a maternal line with *E*-cytotype in *H-E* dysgenic crosses, as well as the maternal line with an *R*-cytotype in the *I-R* dysgenic crosses. It is shown that chronic irradiation (0.25 mGy/h) for 30 generations leads to different effects of genome destabilization, manifested in the change of fitness indicators. The transposition activity of mobile genetic elements characterizing genotypes of the studied populations is changing against the background of chronic irradiation. It is shown that the progeny of disgenic crosses with males from the tested populations have higher levels of dominant letals than in non-disgenic crosses. The efficiency of formation of radiation stability evaluated on the response to acute irradiation at a dose of 30 Gy, depends largely on the cytotype – effect of radioadaptation is not obvious to the population with *H-E* cytotype. The phenomenon of radioadaptation was shown for the population of *Canton-S*, characterized by *I-R* system of hybrid dysgenesis.

Keywords: *Drosophila*, experimental populations, chronic irradiation, hybrid dysgenesis.

Одними из факторов, влияющих на величину стабильности генома, являются мобильные генетические элементы [1]. Так, например, в природных популяциях *Drosophila melanogaster* обнаружены резкие изменения уровня мутабельности и показателей приспособленности, обусловленные внедрением в гены мобильных генетических элементов (МГЭ) [2]. Активация процессов перемещения МГЭ может происходить спонтанно [3, 4], при проведении определённых типов скрещиваний, которые ведут к гибриднему дисгенезу [5, 6], а также при действии экстремальных факторов биологической [7] и физической природы [8, 9].

Мобильные генетические элементы различных типов рассматриваются ныне как непреходящий атрибут геномов про- и эукариот, а также как важнейший фактор их нестабильности и изменчивости [10, 11]. При обработке самцов дрозофилы γ -облучением в дозе 30 Гр в первом поколении потомков, полученных от облучённых самцов, транспозиции были обнаружены только в 3 сайтах, однако в 12-м поколении число сайтов, в которых зафиксирована метка, увеличилось до 17, т. е. можно заключить, что однократное облучение приводит к увеличению скорости перемещения МГЭ, и в последующих поколениях эффект облучения не только сохраняется, но и усиливается [9].

Показано, что хроническое облучение экспериментальных популяций *D. melanogaster* приводит к дестабилизации генома, проявляющейся в изменении показателей жизнеспособности и приспособленности [12–14]. Такая реакция может быть обусловлена изменением транспозиционной активности мобильных элементов.

Цель настоящей работы заключалась в оценке реакции генотипа дрозофил, различающихся содержанием в геноме мобильных генетических элементов систем гибридного дисгенеза на хроническое облучение ионизирующей радиации в малых дозах.

Объекты и методы исследования

В эксперименте использовали перекрывающиеся популяции линий дикого типа *D. melanogaster*, различающихся по цитотипу: *Canton-S* и *Oregon-R* [6, 15]. В дисгенных скрещиваниях на атрофию гонад и SF-стерильность (эмбриональная смертность) использовали в качестве H-линии; линия *CyL/Pm* не имеет *I* и *hobo*-элементы, её

использовали в качестве материнской линии с *E*-цитотипом в *H-E* дисгенных скрещиваниях, а также в качестве материнской линии с *R*-цитотипом в *I-R* дисгенных скрещиваниях.

Контрольные и опытные популяции дрозофилы поддерживали в одинаковых условиях при температуре $25,0 \pm 0,1$ °C и 12-часовом режиме освещения на полной среде.

Опытные популяции подвергались хроническому γ -излучению от источника ^{226}Ra (5,6 сГр/ч) при мощности экспозиционной дозы 0,25 мГр/ч на протяжении всего эксперимента. Поглощённая доза за одно поколение (14 дней) составляла 8 сГр. При остром облучении использовали γ -установку Рокус-М (^{60}Co) при мощности экспозиционной дозы 30 Гр/ч. Поглощённая доза острого γ -облучения составила 30 Гр.

Результаты и обсуждение

Атрофия гонад – одно из характернейших и интенсивно изучаемых следствий *H-E* системы гибридного дисгенеза [16]. Первые признаки гонадной атрофии появляются уже у 5–6 часовых эмбрионов. Следствием этого является отсутствие половых клеток в яичниках и семенниках и общее недоразвитие их у взрослых гибридных самок и самцов.

Степень выраженности гонадной атрофии сильно зависит от температуры, при которой идёт развитие гибридов. Для *H-E* системы характерна наиболее сильная атрофия гонад при 25 °C и наименьшая – при 29 °C [17]. При более низких температурах атрофия гонад наблюдается в меньшей степени. Таким образом, на дисгенную стерильность мух могут влиять даже температурные изменения в окружающей среде [18]. Поэтому, определяя воздействие ионизирующей радиации в малых дозах на дисгенную стерильность у лабораторных линий *D. melanogaster*, необходимо поддерживать определённую постоянную температуру.

SF-стерильность наблюдается в *H-E* и *I-R*-системах гибридного дисгенеза. Она проявляется в виде смертности на ранних и поздних стадиях эмбриогенеза, в зависимости от принадлежности к той или иной системе гибридного дисгенеза. Так, в *H-E*-системе пик гибели эмбрионов приходится на более позднюю стадию – органогенез, а система *I-R* наиболее чувствительна на стадии бластулы [19].

Синдром гибридного дисгенеза проявляется в недоразвитии гонад и дефекте яиц. Это уменьшает жизнеспособность и плодовитость, что, в свою очередь, приводит к уменьшению

Таблица 1 / Table 1

Динамика частоты атрофии гонад дисгенных самок (%), полученных от самцов из контрольной и хронически облучаемой (0,25 мГр/ч) популяций *Canton-S* (CS) и *Oregon-R* (OR)
 Dynamics of atrophy frequency of gonads of disgenic females (%) obtained from males from control and chronically irradiated (0.25 mGy/h) populations of *Canton-S* (CS) and *Oregon-R* (OR)

Поколение Gene-rations	<i>Cy,L/Pm x CS (k)</i>		<i>Cy,L/Pm x CS (o)</i>		<i>Cy,L/Pm x OR (k)</i>		<i>Cy,L/Pm x OR (o)</i>	
	N_c	$X \pm At$	N_c	$x \pm m$	N_c	$x \pm m$	N_c	$x \pm m$
3	90	3,9±2,0	55	18,2±5,2*	125	6,0±2,1	38	7,9±4,4
4	101	2,0±1,4	72	3,5±2,2	61	4,1±2,5	78	7,1±2,9
6	320	3,8±1,1	313	4,8±1,2	195	3,1±1,2	217	5,5±1,6
7	38	34,2±7,7	43	22,1±6,3	61	4,1±2,5	31	25,8±7,9*
9	52	6,7±3,5	66	6,8±3,1	155	21,0±3,3	77	24,0±4,9
10	156	3,9±1,5	181	4,4±1,5	252	3,4±1,1	177	2,0±1,1
28	93	18,3±2,8	98	14,3±2,5	34	8,8±3,4	77	22,1±3,3

Примечание: * $p < 0,05$, N_c – количество самок, k – контроль, o – хроническое облучение.
 Note: * $p < 0,05$, N_c – number of females, k – control, o – chronic irradiation.

приспособительности организмов [20]. При активации мобильных элементов в ответ на действие облучения возможна как индукция генетических повреждений, так и активация репаративных систем, которая направлена на устранение повреждений ДНК клеток, вызванных данными мутагенными факторами [21].

Хроническое облучение самцов *D. melanogaster* в малых дозах в течение первых десяти поколений приводило к достоверному ($p < 0,05$) повышению частоты атрофии гонад самок популяций *Oregon-R* (табл. 1). У линии *Oregon-R* повышение уровня атрофии гонад самок в дисгенных скрещиваниях вызвано индукцией *hobo*-элементов в *H-E*-системе гибридного дисгенеза. Увеличение уровня атрофии гонад в облучаемой линии может быть обусловлено индукцией облучением транспозиционной активности МГЭ систем гибридного дисгенеза [20].

Линия *Canton-S* в данном эксперименте использована в качестве контрольной, так как несёт *I*-элементы, индукция которых при постановке дисгенных скрещиваний не приводит к атрофии гонад. Некоторое повышение уровня атрофии гонад у линии *Canton-S* (тенденция к повышению) может быть связано с наличием нескольких функциональных копий, которые не могут синтезировать транспозазу, однако играют роль регуляторных факторов в определении статуса линии в дисгенных скрещиваниях.

На основании полученных результатов можно предположить, что хроническое облучение в малых дозах вызывает повышение уровня атрофии гонад в обеих линиях, а транспозиции МГЭ систем гибридного дисгенеза,

индуцированные облучением, способны усиливать действие радиации.

Уровень SF-стерильности в контрольных популяциях *Canton-S* и *Oregon-R* на протяжении 30-ти поколений варьирует в пределах 20,8–42,4% и 21,5–40,6% и в облучаемых популяциях от 18,9 до 50,5 и от 16,8 до 32,5 (*Canton-S* и *Oregon-R* соответственно) (табл. 2). Высокий уровень SF-стерильности самцов контрольных популяций *Canton-S* и *Oregon-R* обусловлен активацией транспозиций МГЭ (*I*- и *hobo*-элементов соответственно) в дисгенных скрещиваниях. Облучение в течение 28-ми поколений популяций *Oregon-R* достоверно ($p < 0,05$) понижает уровень SF-стерильности. Известно, что SF-стерильность обусловлена транспозиционной активностью *hobo*-элементов в дисгенных скрещиваниях, которая проявляется, кроме того, в форме атрофии гонад. Очевидно, понижение уровня SF-стерильности линии *Oregon-R* в дисгенных скрещиваниях вызвано тем, что повреждённые половые клетки гибридных самок F_1 элиминируются, тем самым снижая количество дефектных яиц в кладках.

В облучаемой популяции *Canton-S* происходит достоверное ($p < 0,05$) превышение уровня SF-стерильности до десятого поколения. Затем уровень SF-стерильности восстанавливается до контрольных значений.

«SF-стерильность» и «доминантные летали» – это показатели, выявляющие гибель потомства на эмбриональной стадии развития. Различие их состоит лишь в том, что частота SF-стерильности, в отличие от уровня доминантных леталей, в большей степени обусловлена транспозиционной активностью МГЭ систем гибридного дисгенеза.

Сравнивая уровни доминантных летальных мутаций (ДЛМ) дисгенных гибридов с уровнем ДЛМ недисгенных гибридов контрольных популяций линий *Canton-S* и *Oregon-R* за 20 поколений, можно отметить, что частота доминантных леталей у дисгенных гибридов выше, чем у недисгенных, следовательно, можно предположить, что активация МГЭ систем гибридного дисгенеза в дисгенных скрещиваниях приводит к увеличению частоты нарушений эмбриогенеза дрозофилы. Увеличение уровня ДЛМ дисгенных гибридов по сравнению с ДЛМ недисгенных гибридов, полученных от самцов контрольной популяции линии *Canton-S*, обусловлено достоверным повышением ранних леталей. Это связано с тем, что более чувствительной к перемещению I-элемента является стадия бластулы [19]. Увеличение ДЛМ дисгенных гибридов по сравнению с ДЛМ недисгенных гибридов, полученных от самцов контрольной популяции линии *Oregon-R*, вызвано достоверным повышением как ранних леталей, так и поздних. Повышение поздних леталей может быть обусловлено преимущественной чувствительностью к активации *hobo*-элемента стадии органогенеза [19].

После провокационного γ -облучения в дозе 30 Гр самцов из необлучаемых популяций

линий *Canton-S* и *Oregon-R* на 20-м поколении уровень ДЛМ дисгенных гибридов достоверно ($p < 0,05$) выше ($61,0 \pm 2,3$ и $20,1 \pm 2,0\%$ соответственно) по сравнению с уровнем ДЛМ дисгенных гибридов, полученных от самцов облучаемых популяций ($6,6 \pm 1,3$ и $8,7 \pm 1,5\%$ соответственно).

Заключение

Отмечено, что на острое облучение в дозе 30 Гр изучаемые генотипы реагируют по-разному. Острое облучение самцов контрольной популяции *Canton-S* приводит к значимому увеличению частоты доминантных леталей в сравнении с «интактными» самцами 20 поколения (табл. 2) и не изменяет уровень нарушений у генотипа *Oregon-R* ($24,8 \pm 2,1$ и $18,9 \pm 1,5$ соответственно). Уровень ДЛМ у самцов первого поколения после острого облучения у *Canton-S* не изменился, тогда как у генотипа *Oregon-R* увеличился ($p < 0,05$), что может свидетельствовать в пользу того, что системы защиты генотипа у линии *Canton-S* более эффективны, чем *Oregon-R*.

Наши исследования показывают, что в изменении генотипической нестабильности

Таблица 2 / Table 2

Динамика уровня SF-стерильности гибридов дисгенных самок (%), полученных от самцов из контрольной и облучаемой (0,25 мГр/ч) популяций *Canton-S* (CS) и *Oregon-R* (OR)
Dynamics of SF-sterility level of disgenic female hybrids (%) obtained from males from control and chronically irradiated (0.25 mGy/h) populations of *Canton-S* (CS) and *Oregon-R* (OR)

Поколение Generations	<i>Cy,L/Pm x CS</i> (к)		<i>Cy,L/Pm x CS</i> (о)		<i>Cy,L/Pm x OR</i> (к)		<i>Cy,L/Pm x OR</i> (о)	
	N	$x \pm m$	N	$x \pm m$	N	$x \pm m$	N	$x \pm m$
1	475	35,2±2,2	418	50,5±2,45*	524	38,7±2,1	447	26,6±2,1*
2	324	28,7±2,5	310	45,5±2,83*	443	40,6±2,3	289	32,5±2,8*
3	494	21,5±1,9	350	30,3±2,46*	303	29,0±2,6	322	20,8±2,3*
4	467	42,4±2,3	492	48,6±2,3	543	36,5±2,1	450	27,8±2,1*
5	395	22,8±2,1	333	30,0±2,5*	371	28,8±2,4	274	21,2±2,5*
6	360	24,4±2,3	544	27,9±1,9	415	25,1±2,1	450	18,2±1,8*
7	299	26,8±2,6	258	41,5±3,1*	293	32,1±2,7	375	20,8±2,1*
8	327	20,8±2,2	386	28,5±2,3*	317	28,1±2,5	364	19,0±2,1*
9	211	24,6±3,0	298	34,9±2,8*	338	33,1±2,6	228	26,8±2,9
10	308	22,7±2,4	319	33,9±2,7*	316	38,9±2,7	496	16,9±1,7*
15	343	27,1±2,4	361	29,9±2,4	405	35,6±2,4	194	25,8±3,1*
20	440	24,8±2,1	684	18,9±1,5*	534	27,0±1,9	583	20,1±1,7*
21	694	23,6±1,6	640	24,1±1,7	553	23,3±1,8	535	16,8±1,6*
23	656	22,1±1,6	592	22,5±1,7	615	23,4±1,7	527	18,0±1,7*
25	693	23,7±1,6	647	22,1±1,6	646	21,5±1,6	561	16,8±1,6*
28	674	22,6±1,6	683	25,9±1,7	673	26,3±1,7	723	20,3±1,5*

Примечание: * $p < 0,05$, N – количество яиц, к – контроль, о – хроническое облучение.
Note: * $p < 0,05$, N – number of eggs, к – control, о – chronic irradiation.

популяций *Canton-S* и *Oregon-R* важную роль играют мобильные генетические элементы. Кроме того, мобильные генетические элементы являются одним из основных факторов, обуславливающих адаптацию к различным стрессовым факторам, в том числе и к радиации.

References

1. Watti K.V., Tikhomirova M.M. Adaptation and mutagenesis // Radiation mutagenesis and its role in evolution and selection. Moskva: Nauka, 1987. P. 127–142 (in Russian).
2. Zakharov I.K., Ivannikov A.V., Yurchenko N.N. Dynamics of mutational process and gene pool of natural populations of *Drosophila melanogaster* // Modern concepts of evolutionary genetics. Novosibirsk: Institute of Cytology and Genetics SB RAS, 2000. P. 151–159 (in Russian).
3. Golubovsky M.D., Zakharov I.K., Sokolova O.A. Analysis of instability of yellow alleles isolated from natural populations of *Drosophila* in the process of outbreaks of mutability // Genetics. 1987. V. 23. No. 9. P. 1595–1604 (in Russian).
4. Crow J.F. The high spontaneous mutation rate: a health risk? // Proc. Natl. Sci. USA. 1997. V. 94. No. 8. P. 8380–8386. doi: 10.1073/pnas.94.16.8380
5. Kidwell M.G., Kidwell J.F., Sved J.A. Hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster*: a syndrome of aberrant traits including mutations, sterility and male recombinations // Genetics. 1977. V. 86. No. 4. P. 813–833.
6. Ivashchenko N.I. Molecular genetic mechanisms of variability in HD systems in *Drosophila melanogaster* // Advances in Modern Biology. 1991. V. 111. 4. P. 547–559 (in Russian).
7. Peschke V.M., Phillips R.L., Gengenbach B.G. Discovery of transposable element activity among progeny of tissue culture-derived maize plants // Science. 1987. V. 238. P. 804–807. doi: 10.1126/science.238.4828.804
8. Vasilyeva L.A., Ratner V.A. Temperature exposure as a factor of rapid reorganization of the chromosomal pattern of localization of mobile elements in the *Drosophila population* // Developmental biology. Evolution. The biosphere / Ed. A.V. Yablokov. Moskva: Nauka, 1989. P. 90–113 (in Russian).
9. Vasilyeva L.A., Antonenko O.V., Zakharov I.K. The role of mobile genetic elements in the *Drosophila melanogaster* genome // Vavilovskii zhurnal genetiki i selektsii 2011. V. 15. No. 2. P. 225–260 (in Russian).
10. Khesin R.B. The inconstancy of the genome. Moskva: Nauka, 1984. 472 p. (in Russian).
11. Woodruff R.C., Slatko B.E. Factor affecting mutation rates in natural populations // Genetics and Biology of *Drosophila* / Eds. M. Ashburner, H.L. Carson, J.N.L. Thompson. N.Y.: Acad. Press, 1983. V. 3. P. 37–61.
12. Yushkova E.A., Zainullin V.G. Features of the formation of radiation effects in inbred *Drosophila melanogaster* individuals differing in cytotype // Radioecology. 2014. V. 54. No. 1. P. 27–34 (in Russian). doi: 10.7868/s0869803114010196
13. Yuraneva I.N., Zainullin V.G. Aftereffects in chronically irradiated experimental populations of *Drosophila melanogaster* // Theoretical and Applied Ecology. 2020. No. 2. P. 83–88 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-2-083-088
14. Yuraneva I.N., Zainullin V.G. Dynamics of fitness elements of experimental *Drosophila* populations under conditions of chronic low-intensity irradiation // Theoretical and Applied Ecology. 2019. No. 1. P. 60–64 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2019-1-060-064
15. Pimpinelli S., Berloco L., Fanti L., Dimitri P., Bonnacorsi S., Marchetti E., Caizzi R., Caggese C., Gatti M. Transposable elements are stable structural components of *Drosophila melanogaster* heterochromatin // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1995. V. 92. No. 9. P. 3804–3808. doi: 10.1073/pnas.92.9.3804
16. Mitrofanov V.G., Sidorova N.B. Genetics of gender disorders in hybrids *Drosophila* group *virilis* // Genetics. 1980. V. 16. No. 7. P. 1204–1209 (in Russian).
17. Stamatis N., Monastirioti M., Yannopoluos G., Louis Ch. The P-M and the 23.5 MRF (hobo) systems of hybrid dysgenesis in *Drosophila melanogaster* are independent of each other // Genetics. 1989. V. 123. No. 2. P. 379–387.
18. Vasilyeva L.A., Ratner V.A., Shabanov S.A. Expression quantitative trait Radius incompletus, temperature effects and localization of mobile elements in *Drosophila*. Message II. Mobile genetic elements of *D. m.* 412 // Genetics. 1987. V. 23. No. 1. P. 81 (in Russian).
19. Grishaeva T.M., Ivashchenko N.I. Features of ontogenetic development of *Drosophila melanogaster* in the system of dysgenetic crosses // Genetics. 1995. V. 31. No. 9. P. 1233–1242 (in Russian).
20. Ivashchenko N.I., Grishaeva T.M., Bogdanov Yu.F. Influence of γ -irradiation on the ingenious cells of *Drosophila melanogaster* under different conditions of hybrid dysgenesis // Genetics. 1990. V. 26. No. 11. P. 1969–1978 (in Russian).
21. Grishaeva T.M., Ivashchenko N.I. Problems of structural and functional interaction in systems of hybrid dysgenesis // USP. Modern. Biol. 1997. V. 117. No. 1. P. 52–65 (in Russian).