

генетическими методами (особенно в местах, где ранее в неволе разводили алтайского марала и пятнистого оленя). Это позволит получить полное представление об их происхождении и, вероятно, выяснить причины прогрессирующего ухудшения трофейных качеств ряда белорусских популяций, производных от небольшого числа основателей или развивавшихся при отсутствии квалифицированной селекции.

Непонимание важности исследований благородного оленя молекулярно-генетическими методами и сохранение в Беларуси технологии 1956 года по созданию новых популяций благородного оленя, требует принятия кардинальных решений по причине прямого нарушения ратифицированной Беларусью конвенции “О биологическом разнообразии” и действующего Закона “О животном мире”.

Уже сегодня большинство давно назревавших проблем, возможно разрешить, проведя исследования и применив современный научный подход:

Оленей, ранее ввезенных в Беларусь (как неизвестного происхождения), следует идентифицировать на видовую принадлежность до выпуска в угоды.

Новых основателей популяций завозить только после детализации их происхождения.

Белорусские популяции с достоверно выясненным генетическим статусом и сохраняющих высокие трофейные качества, следует укрупнять, расширяя зону их распространения (в т.ч. отселяя племенных оленей для оздоровления популяций в Брестской и Гродненской области).

1. В. В. Бабинок Реаклиматизация благородного оленя в лесах Белорусской ССР: Автореф. дис. канд. биол. наук. – Мн., 1984. – 22 с.
2. А. А. Данилкин Олени (Cervidae) // Москва, ГЕОС, 1999. – 552 с.
3. М. В. Кузнецова, А. И. Волох, В. И. Домнич, В. Е. Тышкевич, А. А. Данилкин Молекулярно-генетические исследования благородного оленя *Cervus elaphus* L. Восточной Европы // Вестник зоологии. 2007. – т. 41, № 6. – С. 505-509.
4. М. П. Павлов Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц СССР // т. III Киров, 1999. – 666 с.
5. В. Е. Тышкевич Наиболее перспективные направления развития охотничьего хозяйства Беларуси в XXI веке // Современные проблемы природопользования, охотоведения и звероводства. – Киров, 2002. – С. 94-97.
6. В. Е. Тышкевич Миграции и сроки смены стадий благородным оленем // Лесное и охотничье хозяйство. – Мн., 2004. – № 2. – С. 30-33.
7. В. Е. Тышкевич Миграции и сроки смены стадий благородным оленем в регионе Восточная Европа-Беларусь // Лесное и охотничье хозяйство. – Мн., 2004. – № 2. – С.30-33.
8. В. Е. Тышкевич Перспективы и направления интенсификации охотничьего хозяйства Беларуси на примере управления и эксплуатации популяций диких копытных животных в 2004-2005 гг. // Лесное и охотничье хозяйство. – Мн., 2006. – № 6. – С. 28-32.
9. В. Е. Тышкевич Факторы, определяющие состояние популяционных группировок благородного оленя в регионах реаклиматизации // Лесное и охотничье хозяйство. – Мн., 2007. – № 7. – С. 17-25.
10. С. В. Шостак Отлов и расселение оленей Беловежской пуши // Беловежская пуши. Исследования. Вып.8. – Мн.: Ураджай, 1974. – С.133-141.

ЧАСТОТА ПОВРЕЖДЕНИЙ ДНК У ЛИЧИНОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*, ИНДУЦИРОВАННЫХ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЕМ В МАЛЫХ ДОЗАХ

Е.А. Юшкова, Д.В. Гурьев, В.Г. Зайнуллин

Институт биологии Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия

ushkova@ib.komisc.ru

Исследования популяций, подвергающихся хроническому облучению ионизирующей радиацией низкой интенсивности, свидетельствуют о том, что облучение приводит к росту частоты летальных мутаций, изменению уровня повреждений генома и клеточной чувствительности к дополнительным воздействиям [1]. Эти изменения лежат в основе генетической нестабильности [2], формирование которой, главным образом, обусловлено

перемещениями мобильных элементов (МЭ). Считают [3], что при их транспозиционной активности образуются разрывы хромосом, являющиеся субстратом для включения определенных систем репарации. Последние, снижая уровень генетических повреждений ДНК, способны увеличивать жизнеспособность особей в популяциях.

С этих позиций наибольший интерес представляет изучение индукции транспозиций МЭ в экспериментальных популяциях *D. melanogaster*, поддерживаемых в условиях хронического γ -излучения в малых дозах (поглощенная доза за одно поколение составила 10 сГр при мощности экспозиционной дозы 0.31 мГр/ч).

Важным в настоящей работе является то, что впервые представлены данные по уровню повреждений ДНК, индуцированных γ -излучением и транспозициями МЭ, в клетках ганглиев дрозофилы методом электрофореза единичных клеток (ДНК-комет). Изначально данный метод с применением такого уникального биологического объекта как дрозофила был проведен на мутантных по репарации линиях при анализе генотоксичности химических веществ [4].

Материал и методы. В качестве материала для исследования были использованы экспериментальные неперекрывающиеся популяции *D. melanogaster*, различающиеся по паттерну МЭ. Модельные популяции были разогнаны из потомства одной семьи линии дикого типа Canton-S (М-цитотип) и подразделены на соответствующие варианты: (CS-о и CS(H)-о — хронически облучаемые несмешанные и смешанные популяции; CS-к и CS(H)-к — контрольные несмешанные и смешанные). Каждый вариант представлен четырьмя популяционными ящиками. Культуры, в которые добавили 1% (от их общего количества) самцов линии Harwich, имеющих в геноме полноразмерные копии Р-элемента, мы назвали смешанными, а остальные популяции — несмешанными. Все популяции содержались в одинаковых условиях при температуре $25.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$ и 12-ти часовом режиме освещения.

Уровень повреждений ДНК (одно- и двунитевых разрывов) в клетках нервных ганглиев личинок дрозофилы оценивали по методу ДНК-комет [4]. Степень поврежденности ДНК, определяемая этим методом, оценивается по количеству мигрировавшей из ядерной области фрагментов ДНК и расстоянию их миграции после проведения электрофореза иммобилизованных в агарозу единичных клеток.

Результаты и обсуждение. При транспозициях МЭ и действии ионизирующей радиации возникает разнообразный спектр повреждений генетического материала, из которых наибольшее биологическое значение имеют одно- (ОР) и двунитевые (ДР) разрывы ДНК. Полученные данные свидетельствуют, что у необлученных личинок смешанных ($t = 3.22$, $p < 0.05$), а также облученных ($t = 6.10$, $p < 0.001$) и контрольных ($t = 4.59$, $p < 0.01$) несмешанных популяций уровень ОР ДНК значительно выше уровня ДР ДНК (таблица).

Таблица

Уровень повреждений ДНК в клетках ганглиев личинок экспериментальных популяций *D. melanogaster*

Популяции							
CS-к		CS-о		CS(H)-к		CS(H)-о	
ОР	ДР	ОР	ДР	ОР	ДР	ОР	ДР
2.3±0.19	1.4±0.09	3.2±0.06	2.2±0.17	2.7± 0.08	1.8± 0.27	2.4±0.10	2.3±0.15

Отметим, что в смешанных культурах дрозофилы, поддерживаемых в условиях хронического облучения, разницы между параметрами ОР и ДР не наблюдается ($t = 0.27$, $p > 0.05$). Кроме того, при сравнении частоты ОР между исследуемыми вариантами обнаружено, что в контрольных смешанных ($t = 1.69$, $p > 0.05$) и особенно в облученных несмешанных ($t = 4.50$, $p < 0.01$) популяциях концентрация ОР выше, чем в интактных CS-к культурах,

в которых частота ОР не отличается от таковой в $CS_{(H)}$ -о популяциях ($t = 0.23$, $p > 0.05$). На основании того, что уровень радиационно-индуцированных ОР в ганглиях личинок $CS_{(H)}$ -о культур дрозофилы практически не отличается от фонового уровня у личинок CS -к и $CS_{(H)}$ -к популяций, можно предположить активное участие SSA-механизма (single strand annealing – ренатурация одноцепочечных разрывов ДНК) в репарации повреждений путем отжига процессированных одностранных разрывов ДНК [5]. Этот механизм, его запуск и интенсивность в основном зависят от транспозиций Р-элементов, активность которых увеличивается при воздействии ионизирующего излучения [6].

Иная картина выявлена при рассмотрении повреждения ДНК хромосом на уровне двуцепочечных разрывов ДНК, где во всех экспериментальных популяциях, включая $CS_{(H)}$ -о ($t = 5.43$, $p < 0.01$), наблюдается повышенная частота ДР относительно контроля (CS -к). Более того, облученные смешанные культуры дрозофилы имеют тенденцию к большему выходу двунитевых нарушений ДНК ($t = 1.70$, $p > 0.05$), чем $CS_{(H)}$ -к популяции. Это согласуется с данными некоторых авторов [6], которые показали, что облучение вызывает увеличение эксцизий Р-элементов в эмбрионах дрозофилы, имеющих соматически активную Р-транспозазу.

Таким образом, можно заключить, что метод ДНК-комет позволяет определить не только уровень генотоксичности неспецифических воздействий химическими веществами и облучением, но и частоту хромосомных повреждений, индуцированных перемещениями МЭ, в частности Р-элементов. Хроническое облучение в малых дозах и тарнспозиции МЭ являются основными источниками дестабилизации генома, в основе которой лежит образование таких серьезных для клетки генетических нарушений, как одно- и двунитевые разрывы ДНК. Увеличение последних приводит к потере жизненно важных функций клетки, что впоследствии может сказаться на общей выживаемости целого организма и даже популяции. Особое значение в проявлении радиобиологического эффекта, на наш взгляд, имеет генетическое окружение, которое, отвечая на внешние стимулы, способно изменять экспрессию близлежащих генов, синтезирующих белковые продукты репарации и регуляции клеточного деления.

1. B. Wallace Genetic changeover in *Drosophila* populations // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1986. – V. 83, № 5. – P. 1374-1378.
2. В. Г. Зайнуллин Генетические эффекты хронического облучения в малых дозах ионизирующего излучения // Спб.: Наука. – 1998. – 100 с.
3. Е. В. Чмуж, Л. А. Шестакова, В. С. Волкова, И. К. Захаров Высококчувствительные экспериментальные системы инсерционного мутагенеза в репарационно-дефицитном генетическом окружении у *Drosophila melanogaster*: Новые возможности для изучения пострепликационной репарации двуцепочечных разрывов ДНК и механизмов транспозиции мобильных генетических элементов // Генетика. – 2007. – Т. 43, № 1. – С. 52-60.
4. C. Bilbao, J. A. Ferreira, M. A. Comendador, L. M. Sierra influence of mus201 and mus308 mutations of *Drosophila melanogaster* on the genotoxicity of model chemicals in somatic cells in vivo measured with the Comet assay // Mutat. Res. – 2002. – V. 503, № 1. – P. 11-19.
5. C. R. Preston, W. R. Engels, C. Flores Efficient repair of DNA breaks in *Drosophila*: Evidence for single-strand annealing and competition with other repair pathways // Genetics. – 2002. – V. 161, № 2. – P. 711-720.
6. A. M. Handler, S. P. Gomez P-element excision in *Drosophila* is stimulated by gamma-irradiation in transient embryonic assays // Genet. Res. – 1997. – V. 70, № 1. – P. 75-78.