

УДК 575.174.2

## ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ РИБОФЛАВИНА И ПИРИДОКСИНА НА НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОПУЛЯЦИИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Сидорская В.А., Опарина С.А., Кончина Т.А.

Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет  
им. Н.И. Лобачевского, Арзамасский филиал ННГУ, Арзамас, e-mail: sviola@yandex.ru

Одним из лучших модельных объектов для изучения влияния различных веществ на организм является *Drosophila melanogaster*, так как имеет сходные с млекопитающими метаболические системы. Поэтому можно осуществлять анализ различных эффектов препаратов на данном объекте, спрогнозировав результат на организмы других эукариот, к которым относится и человек. Изучено влияние различных концентраций витаминов В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub> (0,05%, 0,1% и 0,5%) на некоторые показатели популяции *Drosophila melanogaster*: численность, половой состав и кукольную гибель. Все препараты вносились в банановую среду, на которой выращивались мухи, эксперимент проводился в пяти повторностях. Соотношение полов – одна из важнейших характеристик раздельнополых популяций, благодаря которой можно судить о приспособленности популяции к условиям обитания. Показано, что высокие дозы препаратов негативно влияют на динамику популяции: снижают численность и вторичную половую пропорцию, увеличивают частоту доминантных леталей, что приводит к возрастанию кукольной гибели. Низкие дозы рибофлавина и пиридоксина оказывают позитивное действие на биологические показатели *Drosophila melanogaster*, что выражается в увеличении численности потомства, в ускорении его развития, росте вторичной половой пропорции.

**Ключевые слова:** *Drosophila melanogaster*, витамин В<sub>2</sub>, витамин В<sub>6</sub>, численность популяции, вторичная половая пропорция, кукольная гибель

## STUDY OF THE EFFECT OF RIBOFLAVIN AND PYRIDOXIN ON SOME BIOLOGICAL INDICATORS OF THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* POPULATION

Sidorskaya V.A., Oparina S.A., Konchina T.A.

National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky,  
Arzamas branch of the UNN, Arzamas, e-mail: sviola@yandex.ru

One of the best model objects for studying the effect of various substances on the body is *Drosophila melanogaster*, since it has metabolic systems similar to mammals. Therefore, it is possible to analyze the various effects of drugs on this object, predicting the result on organisms of other eukaryotes, including humans. The sex ratio is one of the most important characteristics of segregated populations, thanks to which it is possible to judge the adaptability of the population to living conditions. The influence of different concentrations of vitamins В<sub>2</sub> and В<sub>6</sub> on some indicators of the *Drosophila melanogaster* population: number, sexual composition and pupal death was studied. All the preparations were introduced into the banana medium on which the flies were grown, the experiment was carried out in five repetitions. It has been shown that high doses of drugs negatively affect the dynamics of the population: they reduce the number and secondary sexual proportion, increase the frequency of dominant lethals, which leads to an increase in pupal death. Low doses of riboflavin and pyridoxine have a positive effect on the biological parameters of *Drosophila melanogaster*, which is expressed in an increase in the number of offspring, in the acceleration of its development, the growth of the secondary sexual proportion.

**Keywords:** *Drosophila melanogaster*, vitamin В<sub>2</sub>, vitamin В<sub>6</sub>, population size, secondary sex ratio, pupal death

Продолжительность жизни человека год от года увеличивается, ее качество улучшается. Но, несмотря на изобилие продовольственных товаров, пищевой рацион большинства людей сложно назвать сбалансированным. Поэтому люди все чаще вынуждены прибегать к различным добавкам к пище – дополнительным источникам витаминов. Часто применяется не один препарат, а сразу несколько, причем в некоторых случаях не соблюдаются рекомендуемый способ употребления, продолжительность приема и дозировка. Вопреки распространенному заблуждению, что витамины не могут быть лишними, они мо-

гут не только способствовать улучшению самочувствия, но и наносить урон нашему организму.

Одним из лучших модельных объектов для изучения влияния различных веществ на организм является *Drosophila melanogaster*, так как имеет сходные с млекопитающими метаболические системы. Поэтому мы можем осуществлять анализ различных токсичных эффектов (мутагенности, канцерогенности, тератогенности) препаратов на данном объекте, спрогнозировав результат на организмы других эукариот, к которым относится и человек [1, 2].

Тесты на дрозофиле отличаются своей экономичностью. *Drosophila melanogaster* достаточно просто содержать, она не требует сложных питательных сред, ее цикл развития составляет 10 дней при температуре 25 °С. Дрозофила обладает хорошей плодовитостью, поэтому за короткий срок эксперимента можно получить статистически значимые результаты. Использование *Drosophila melanogaster* в различных исследованиях имеет более чем столетнюю историю и до сих пор является актуальным [3–5].

Целью нашего исследования было рассмотрение влияния витаминов В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub> на некоторые экологические и генетические показатели популяции *Drosophila melanogaster*.

#### Материалы и методы исследования

В своем исследовании мы остановились на двух витаминах – В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub>, имеющих важное значение для организма. Витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин) выполняет значимые функции в организме животных и человека: взаимодействует с АТФ, образуя коэнзимы флавинпротеинов – флавинмононуклеотид и флавинадениндинуклеотид, входящие в состав флавиновых ферментов и принимающие участие в окислительно-восстановительных реакциях; в углеводном, белковом и жировом обменах; в тканевом дыхании [6]. Нами был использован препарат рибофлавин-мононуклеотид, содержащий 10 мг рибофлавина фосфат натрия на 1 мл ампульного раствора.

Витамин В<sub>6</sub> (пиридоксин) является важным стимулятором в обмене веществ, особенно важен для работы центральной и периферической нервной системы. Без присутствия пиридоксина невозможен нормальный белковый, а также углеводный и жировой обмен. Пиридоксин используется в организме для синтеза коферментов: пиридоксальфосфата и пиридоксаминфосфата, наиболее значимая функция которых – перенос аминокислот и карбоксильных групп в реакциях метаболизма аминокислот. Почти половина имеющегося в организме пиридоксина расходуется на выделение углеводов в кровь для равномерного снабжения клеток глюкозой [6]. Для исследования был использован препарат пиридоксина гидрохлорид, содержащий 50 мг активного вещества пиридоксина гидрохлорида на 1 мл ампульного раствора.

Соотношение полов – одна из важнейших характеристик раздельнополых популяций, благодаря которой можно судить о приспособленности популяции к условиям обитания [7–9]. Установлено, что неблагоприятные факторы обуславливают сдвиг

половой пропорции в сторону мужских особей, так как они ответственны за разнообразие генотипов, т.е. за качество популяции, и приспособливают ее к меняющимся условиям. Благоприятные факторы среды приводят к закономерному увеличению особей женского пола. От самок зависят количественные показатели популяции, в этом случае популяция стремится увеличить число отобранных в ходе полового отбора наилучших генотипов. Катастрофические факторы среды также сдвигают половую пропорцию в женскую сторону, обеспечивая выживание вида. Поэтому мы решили использовать вторичное соотношение полов (♂:♀) для оценки влияния некоторых витаминов группы В на популяцию *Drosophila melanogaster*.

При исследовании влияния дозы рибофлавина и пиридоксина на ряд экологических и генетических показателей популяции дрозофилы мы использовали три различные концентрации – 0,05%, 0,1% и 0,5%. Наш выбор был обусловлен предварительной серией экспериментов, которая показала, что большие концентрации препаратов оказывают губительное воздействие на мух, содержащихся на витаминизированных средах, – мухи погибали, не оставив потомства. Все препараты вносились в банановую среду, на которой выращивались мухи, эксперимент проводился в пяти повторностях. Генотоксичность препаратов рассматривалась по куколочной гибели, которая отражала действие доминантных леталей – результат серьезных повреждений хромосом (делеции, инверсии, транслокации и др.). После окончательного вылета имаго мы подсчитывали на стенках пробирок относительное количество темных пупариев (леталь).

Статистическую обработку результатов исследования проводили по оценке разности между выборочными долями генеральной совокупности с использованием t-критерия Стьюдента

#### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты изучения влияния различных концентраций рибофлавина на общую численность дочернего поколения *Drosophila melanogaster* представлены на рис. 1. При применении 0,05%-ной концентрации витамина В<sub>2</sub> наблюдается увеличение общей численности потомства по сравнению с контролем, а при 0,1%-ной и 0,5%-ной – статистически значимое снижение количества особей (p < 0,05%). Дозы витамина 0,1% и 0,5% создают фармакологический

стресс для дрозофил, и мухи реагируют на него как снижением общей плодовитости, так и гибелью потомства на стадии личинки и куколки. 0,5%-ная концентрация препарата оказалась хронически токсичной для дрозофилы. При данной дозе рибофлавина сами родители часто погибали, а те, кто выживал, оставляли крайне мало потомства по сравнению с другими концентрациями и с контролем. Это свидетельствует о том, что у витамина есть верхний порог дозировки и при его нарушении может развиваться гипервитаминоз.

Использование среды с 0,05%-ным содержанием рибофлавина привело к статистически значимому увеличению количества потомков по сравнению с контролем. Это свидетельствует о положительном эффекте низких доз данного препарата, что согласуется с механизмом действия витаминов [6].

Данные исследования по изучению влияния различных концентраций рибофлавина на половую структуру дочернего поколения *Drosophila melanogaster* представлены на рис. 2.

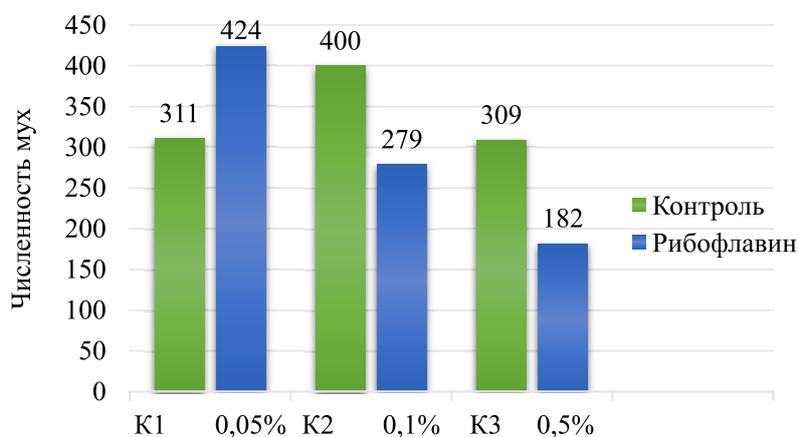


Рис. 1. Влияние различных концентраций рибофлавина (%) на общую численность дочернего поколения *Drosophila melanogaster*

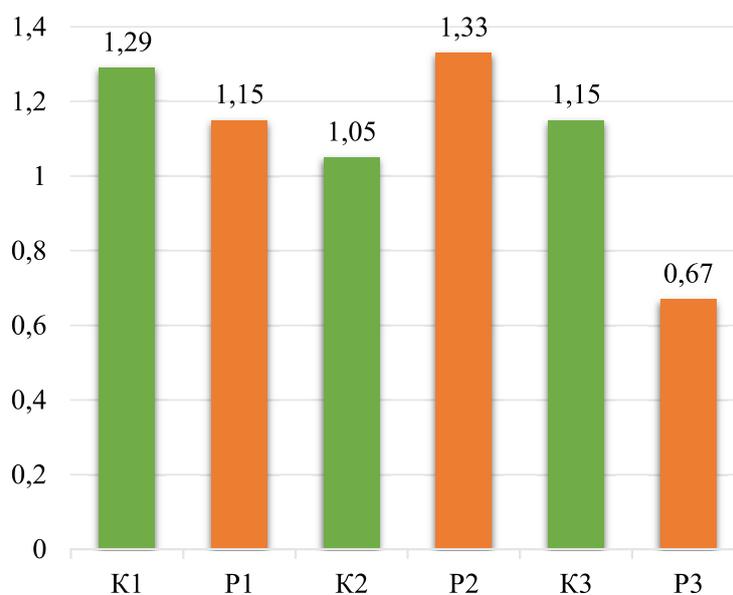


Рис. 2. Влияние различных концентраций рибофлавина на вторичную половую пропорцию популяции *Drosophila melanogaster*. Условные обозначения: K1 – контроль 1 (на рибофлавин 0,05%); K2 – контроль 2 (на рибофлавин 0,1%); K3 – контроль 3 (на рибофлавин 0,5%); P1 – рибофлавин 0,05%; P2 – рибофлавин 0,1%; P3 – рибофлавин 0,5%

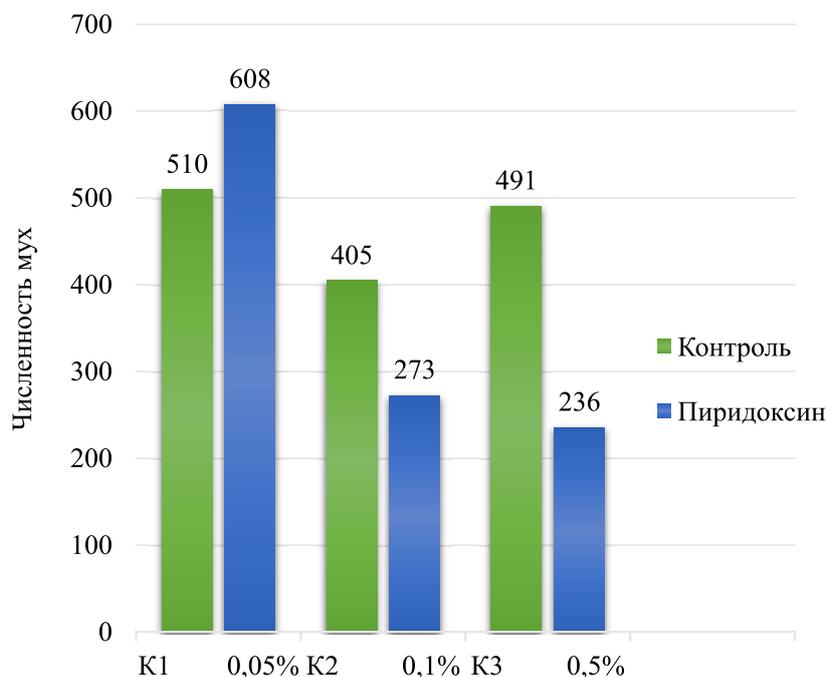


Рис. 3. Влияние различной концентрации пиридоксина (%) на общую численность дочернего поколения *Drosophila melanogaster*

Анализ половой структуры дочернего поколения в контроле и при использовании различных концентраций рибофлавина показал зависимость половой структуры потомства от дозы препарата. Вторичная половая продукция, т.е. отношение количества самцов к числу самок, при 0,05%-ной концентрации – 1,15, что свидетельствует о благоприятном действии этой дозы, так как численность особей женского пола незначительно преобладает над количеством мух мужского пола. При 0,1%-ной концентрации вещества половая пропорция изменяется в сторону самцов, что, возможно, оценено популяцией как незначительное стрессовое воздействие, и самцы, являясь экспериментальным компонентом эволюционной системы, корректируют историческое развитие вида. Анализ половой пропорции в опыте с 0,5%-ной концентрацией рибофлавина выявил достоверное увеличение ( $p < 0,05$ ) самок, что свидетельствует о мощном стрессовом факторе. Согласно исследованиям ученых, снижение половой пропорции говорит о крайне неблагоприятных, катастрофических условиях среды [8, 9].

Результаты исследования дозовой зависимости пиридоксина представлены на рис. 3.

Анализ данных по витамину B<sub>6</sub> выявил сходные с действием рибофлавина закономерности (рис. 3). При воздействии на по-

пуляцию дрозофилы низких доз препарата наблюдается увеличение численности потомства на 20%. При использовании высоких доз численность дочернего поколения резко уменьшается, причем, чем выше концентрация препарата, тем меньше потомков: при 0,1% рибофлавина снижение составляет 33%, при 0,5% рибофлавина – 52%.

Анализ половой структуры дочернего поколения в контроле и при использовании различных концентраций пиридоксина также показал зависимость соотношения ♂:♀ от дозы витамина (рис. 4).

Аналогично влиянию рибофлавина, изменения нормальной вторичной половой пропорции популяции дрозофилы при воздействии слабой (0,05%) и средней (0,1%) концентрациями пиридоксина не наблюдается. Несмотря на то что численность самцов несколько преобладает над количеством самок, этот половой дисбаланс несущественен. Данный факт еще раз свидетельствует о положительном влиянии низких доз пиридоксина на организм. Использование более высоких доз пиридоксина (0,5%) приводит к значительному снижению численности потомства по сравнению с контролем и изменению полового соотношения в сторону самок. Как выше уже отмечалось, такая диспропорция означает реакцию популяции на катастрофические условия окружающей

среды, когда она стремится выжить за счет сверхпродукции мух женского пола. С помощью флуктуации полового состава популяция стремится приспособиться к меняющимся условиям среды. Эта корректировка осуществляется родительским поколением по мере оценки им качества среды.

Для изучения влияния витаминов В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub> на некоторые генетические показатели

популяции *Drosophila melanogaster* была оценена кукольная гибель как показатель доминантных летальных мутаций. Данные исследования, представленные в таблице, наглядно демонстрируют явление «доза – эффект» витаминных препаратов: чем выше концентрация вещества, к тем более серьезным повреждениям генетического аппарата они приводят.

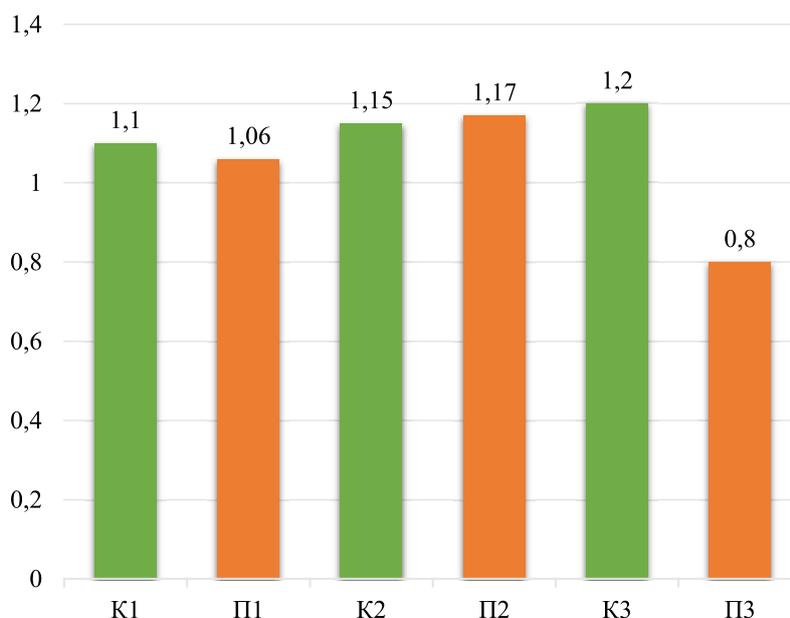


Рис. 4. Влияние различных концентраций пиридоксина на вторичную половую пропорцию популяции *Drosophila melanogaster*. Условные обозначения: K1 – контроль 1 (на пиридоксин 0,05%); K2 – контроль 2 (на пиридоксин 0,1%); K3 – контроль 3 (на пиридоксин 0,5%); P1 – пиридоксин 0,05%; P2 – пиридоксин 0,1%; P3 – пиридоксин 0,5%

#### Влияние различных концентраций витаминов В<sub>2</sub> и В<sub>6</sub> на кукольную гибель *Drosophila melanogaster*

вариант опыта	№ повторности				
	1 (в%)	2 (в%)	3 (в%)	4 (в%)	5 (в%)
Контроль 1	1,15	0,50	–	0,70	0,30
Рибофлавин 0,05 %	– (+)	– (–)	– (–)	1,75 (–)	– (–)
Контроль 2	2,1	1,4	–	–	2,08
Рибофлавин 0,1 %	3,3 (–)	1,8 (–)	– (–)	– (–)	2,24 (–)
Контроль 3	–	–	1,59	–	–
Рибофлавин 0,5 %	6,0 (+++)	4,30 (++)	2,06 (–)	– (–)	3,28 (++)
Контроль 4	1,16	0,32	1,55	1,00	–
Пиридоксин 0,05 %	– (+)	0,42 (–)	– (+)	1,06 (–)	– (–)
Контроль 5	0,66	–	–	–	–
Пиридоксин 0,1 %	0,20 (–)	1,11(+)	3,2(++)	3 (+++)	– (–)
Контроль 6	1,52	–	–	1,0	2,1
Пиридоксин 0,5 %	7,3(+++)	4,32(+++)	4,2(+++)	2,85 (++)	3,48 (+)

Условные обозначения: «+++» – достоверные отличия при  $p < 0,001$ ; «++» – при  $p < 0,01$ ; «+» – при  $p < 0,05$ ; «–» – достоверные отличия отсутствуют.

Проведенное исследование показало, что низкие дозы рибофлавина и пиридоксина оказывают позитивное действие на биологические показатели *Drosophila melanogaster*, что выражается в увеличении численности потомства, в ускорении его развития, росте вторичной половой пропорции. Высокие концентрации  $V_2$  и  $V_6$  являются стрессом для популяции дрозофилы: приводят к снижению численности потомства и вторичного соотношения полов, к накоплению летальных мутаций.

#### Список литературы

1. Жестков В.А., Сидорская В.А. Создание линии *Drosophila melanogaster* со сцепленными маркерами *uw* и изучение ее биологических особенностей // Научное обозрение. Биологические науки. 2017. № 1. С. 91–94.
2. Сидорская В.А., Марина А.В., Пичугина Н.А. Создание новых тест-систем *Drosophila melanogaster* и возмож-

ности их использования в генетическом анализе // Биология в школе. 2019. № 3. С. 51–54.

3. Болоболова Е. У., Дорогова Н. В., Федорова С. А. Основные сценарии генетически регулируемой клеточной гибели в оогенезе *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2020. Т. 56. № 6. С. 636–648.

4. Ступникова А.Н., Васильева Ю.В., Неретина Т.В., Кондрашов А.С. Искусственный отбор на снижение приспособленности в панмиктических популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2019. Т. 55. № 4. С. 383–390.

5. Коромыслов Ю.А., Илинский Ю.Ю., Иванников А.В., Захаров И.К. Особенности мутационного процесса в X-хромосоме линии Z3314 *Drosophila melanogaster* из природной популяции Звенигородка (Украина) // Генетика. 2018. Т. 54. № 2. С. 167–177.

6. Биохимия / Под ред. Л.А. Даниловой. СПб.: СпецЛит, 2020. 333 с.

7. Аслаян М.М., Солдатова О.П. Генетика и происхождение пола. М.: Авторская академия, 2010. 113 с.

8. Геодакян В.А. Эволюционные хромосомы и эволюционный половой диморфизм // Изв. АН. Серия биологическая. 2000. № 2. С. 133–148.

9. Искрин В.И. Диалектика полов. СПб.: Б&К, 2001. 207 с.