

IV Международная конференция учащихся  
«Научно-творческий форум»

Научно-исследовательская работа

Предмет: Биология

## **ВЛИЯНИЕ СВЧ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА ЖИЗНЕННЫЙ ЦИКЛ ДРОЗОФИЛЫ ФРУКТОВОЙ (*DROSOPHILA MELANOGASTER*)**

***Автор: Демичева Руслана Юрьевна,**  
Россия, Мурманская область, г. Апатиты  
МБУДО ДДТ имени академика А.Е. Ферсмана  
объединение «Юный исследователь»,  
МБОУ "Гимназия № 1", 7 класс*

***Руководители: Титова Наталья Сергеевна,**  
педагог дополнительного образования  
МБУДО ДДТ имени академика А.Е. Ферсмана;  
**Демичева Оксана Николаевна,**  
педагог дополнительного образования  
МБУДО ДДТ имени академика А.Е. Ферсмана ДДТ;  
**Смирнова Мария Васильевна,**  
научный сотрудник лаборатории медицинских и  
биологических технологий ФИЦ КНЦ РАН*

2022 г.

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

Введение.....	3
Основная часть.....	5
Теоретическая часть.....	5
Практическая часть.....	8
Заключение.....	13
Список литературы .....	14
Приложения 1-9.....	15-21

## Введение

**Актуальность.** В современном мире человека окружают самые разнообразные виды электромагнитного излучения (ЭМИ). Возможность их негативного действия на человека изучается давно. И если для многих типов ЭМИ доказано негативное воздействие на организм человека (например, ультрафиолетового и рентгеновского излучения), вопрос о характере влияния неионизирующего ЭМИ на биологические объекты по-прежнему открыт.

Проблема использования сверхвысокочастотного (СВЧ) электромагнитного излучения в настоящее время становится все более актуальной вследствие распространения противоречивой информации о рисках и его опасности. Источниками СВЧ – излучения являются: средства связи, бытовая техника, а также розетки и энергосберегающие лампы [1].

Важной задачей биологов является определение влияния электромагнитного излучения на живые организмы. Для достоверной оценки изменения физиологического состояния и основных жизненных функций биологических объектов, подвергнутых электромагнитному излучению, необходим правильный выбор модельных объектов.

Особенно чувствителен к вредному влиянию электромагнитного излучения развивающийся организм [2,3]. Электромагнитные излучения могут вызывать нарушения развития при воздействии на различные стадии развития. Однако наиболее уязвимыми периодами являются ранние стадии развития зародыша. На этих стадиях биологические процессы могут быть и модифицированы, и полностью подавлены. Ясной концепции по данному вопросу в настоящее время нет. Во многом это обусловлено невозможностью экспериментального изучения указанной проблемы непосредственно на человеке и трудностями при работе с лабораторными животными. Поэтому необходим удобный модельный объект для изучения основных закономерностей и механизмов действия электромагнитных излучений на индивидуальное развитие. Таким объектом по ряду причин является дрозофила.

Дрозофила фруктовая (*Drosophila melanogaster*) является одним из наиболее часто используемых объектов для изучения влияния антропогенных факторов. Дрозофила — это прекрасно изученный многими поколениями генетиков организм, обладающий высокой плодовитостью при небольшом сроке развития от яйца до имаго и легкостью культивирования.

Гены мухи на 70 процентов состоят из «гомологических генов», аналогичных человеческим, что позволило сделать ее одним из центральных объектов генетики и других биологических наук для эколого-гигиенических и генетико-токсикологических исследований различных факторов среды. Дрозофила используется при моделировании некоторых заболеваний человека, например, болезни Паркинсона, Альцгеймера, для изучения механизмов, лежащих в основе иммунитета, диабета, онкологических заболеваний [4].

**Практическое назначение исследования.** В данной работе проведено исследование по изучению влияния СВЧ-излучения на жизненный цикл дрозофилы с отметкой фаз развития, соотношения полов и общего состояния.

**Гипотеза:** СВЧ-излучение оказывает влияние на жизненный цикл дрозофилы.

**Цель работы:** изучение влияния СВЧ-излучения на жизненный цикл дрозофилы.

**Задачи:**

1. собрать и изучить справочный материал по данной теме;
2. выбрать методику проведения исследования;
3. подготовить объект исследования к эксперименту;
4. провести лабораторную обработку;
5. провести анализ полученных результатов;
6. сделать выводы по результатам работы;
8. наметить перспективы дальнейшего продолжения работы.

**Объект исследования:** Мушка дрозофила фруктовая (обыкновенная) (*Drosophila melanogaster*).

**Предмет исследования:** жизненный цикл мухи

**Методы исследования:**

1. Теоретические (работа с литературой).
2. Практические (методы лабораторного исследования):
3. Математические (обработка результатов и их графическое представление).

**Материалы и оборудование:** микроволновая печь (Приложение №1), составляющие для приготовления питательной среды для мух, пробирки, бинокляр и микроскоп, персональный компьютер с установленным Microsoft Office Excel, блокнот и карандаш для записей.

**Основная часть****Теоретическая часть****1. Микроволновая печь.**

Изобретение микроволновой печи принадлежат немецким ученым. Впервые микроволновые печи были созданы во время второй мировой войны в университете Гумбольдта в Берлине. Уже в 1952 году на рынок США поступила микроволновая печь, приспособленная для домашнего пользования. На постсоветский рынок первые микроволновые печи западного и отечественного производства стали поступать только после развала Советского Союза (до того они были запрещены) [5].

Мы часто слышим об электромагнитном излучении, но не задумываемся о том безопасно ли оно для здоровья. В помещениях постоянно работает огромное количество источников электромагнитного излучения. Мы конечно не чувствуем исходящие от них волны, поэтому наверно и не задумываемся об их вреде. В современном мире все больше появляется устройств: мобильные телефоны, планшеты, ноутбуки и др. Всемирная организация здравоохранения признала проблему электромагнитного загрязнения среды обитания человека одной из важных экологических проблем [6].

С медицинской точки зрения, считается, что введение в человеческий организм молекул, подвергшихся воздействию микроволн, имеет гораздо больше шансов причинить вред, чем пользу.

Электромагнитное излучение сверх высокой частоты (или СВЧ-излучение) встречается: в микроволновой печи, медицинских устройствах, радиолокационных устройствах. Основными элементами микроволновой печи можно считать: металлический корпус, передняя дверца, поддон для пищи, магнетрон. Магнетрон является источником волн СВЧ, металлический корпус и передняя дверца защищают внешнюю среду от СВЧ-излучения. Дверца микроволновой печи оснащена защитным экраном, который удерживает излучаемые электромагнитные волны внутри прибора, наружу прорывается лишь незначительная часть излучений. Включить микроволновку с открытой дверцей не получится — сработает автоматическая защита, и устройство не заведется.

В инструкции по применению микроволновой печи мы нашли рекомендации, где сказано, что во время работы прибора следует находиться на расстоянии не ближе 1,5 метра.

## **2. Описание объекта исследования**

Класс: Насекомые (Insecta)

Отряд: Двукрылые (Diptera)

Семейство: Плодовые мушки (Drosophilidae)

Вид: Дрозофила обыкновенная (чернобрюхая, уксусная, плодовая, фруктовая) (*Drosophila melanogaster*)

Дрозофила обыкновенная – плодовая (уксусная) мушка – имеет красные глаза и жёлто-коричневую окраску с поперечными черными кольцами поперёк брюшка. Её родиной является Индо-Малайская область. Сейчас же она населяет Америку, Африку, Австралию, Японию и Южную Европу, в частности Украину, Молдавию и кавказские государства. Питается ферментированными фруктами и овощами.

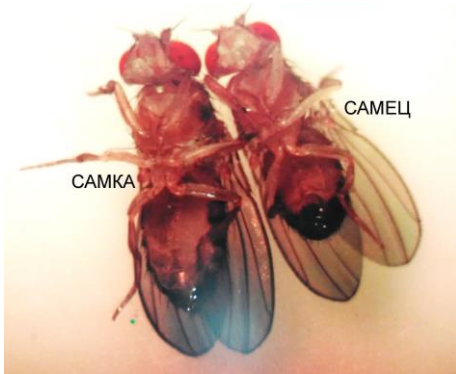


Рис. 1. Самка и самец дрозофилы

Самки и самцы дрозофилы несколько отличаются по величине и по ряду морфологических признаков. Длина тела самки около 2,5 мм, самцы же заметно меньше, задняя часть их тела темнее. Для новичка, пытающегося определить пол мухи, наиболее ярким отличительным признаком может служить сплошь черный кончик брюшка самца. Брюшко у самки округлое с заостренным концом. (Рис. 1).

Дрозофила, как насекомое с полным превращением, имеет несколько стадий развития: яйцо, личинку, куколку, взрослую особь (Рис. 2).

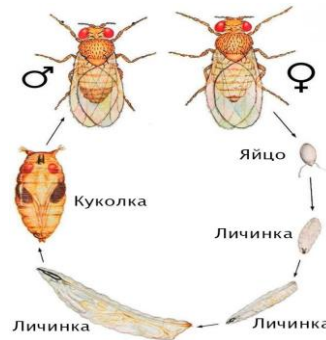


Рис. 2. Стадии развития дрозофилы

Крошечная личинка, вылупившаяся из яйца, претерпевает две линьки, так что личиночный период состоит из трех подвижных стадий или возрастов: первого, второго и третьего возрастов. Личинка сбрасывает старую кутикулу во время каждой линьки. Личинки разных возрастов можно определить по их размеру тела, дыхальцам и ротовым крючкам. Личинки 1-го, 2-го и начала 3-го возраста в основном остаются в пище, активно питаются и увеличивают массу тела. Личинки позднего третьего возраста выходят из пищи и ползают в поисках сухого места для окукливания (в лаборатории, где они выращиваются, обычно является стенка пробирки). Личинки прикрепляются к сухому месту, после чего они проходят последнюю линьку, чтобы начать стадию куколки. Куколка формируется внутри последней личиночной кутикулы. В течение следующих 4-5 дней куколка претерпевает полный метаморфоз внутри куколочного футляра (Рис. 3) [7].



Рис. 3. Стадии развития мушки начиная от яйца (слева направо: яйцо, личинка первого возраста, личинка второго возраста, личинка третьего возраста, первая стадия пупария, вторая стадия пупария, 3 стадия пупария (средняя), 4 стадия пупария (поздняя)

Продолжительность жизни взрослой мухи, т.е. с момента вылупления ее из куколки в лабораторных условиях равна 2-4 неделям и зависят в значительной мере от условий содержания (температуры, влажности, пищи, плотности содержания, наличия в питательной среде бактерий, режима день-ночь) [8].

### Практическая часть

Существует множество опытных методик работы с дрозофилой и влиянием на ее организм, плодовитость и другие параметры. В научных целях проводят и воздействие на самцов, и на родителей, и на самок. В нашем исследовании мы выбрали методику воздействия на родителей, чтобы оценить влияние СВЧ-излучения на потомков с незначительной модификацией и сокращением времени наблюдения.

Методика заключается в обработке излучением родительских особей (изначально девственных) с последующим их удалением из пробирок и наблюдении за развивающимися личинками, куколками и имаго. В качестве параметров оценки возможного влияния СВЧ-излучения было взято сравнение соотношения полов в вариантах опыта с контролем и скорость прохождения жизненного цикла.

Первым этапом работы был подбор и подготовка объектов. Вторым этапом – выбор оптимального времени воздействия СВЧ-излучения и облучение. Третьим этапом - наблюдение и анализ результатов.



## **1. Первый этап работы**

На первом этапе осуществлялась подготовка к эксперименту, изучение методики работы с дрозофилой, приготовление питательной среды, отбор самцов и самок для эксперимента.

### **1.1. Подготовка пробирок и питательной среды по разработанным методикам.**

Пробирки, для содержания мушек, и стакан для добавления каши предварительно моют в водопроводной воде, затем 2 часа кипятят их в дистиллированной воде для удаления возможного оставшегося загрязнения. Прокипяченные пробирки и стаканчик помещают в сухожаровой шкаф на 1,5-2 часа при температуре 120-190<sup>0</sup>С для стерилизации.

Для содержания дрозофилы в лаборатории требуется соответствующая пищевая среда в пробирках. Существует множество рецептов питательных сред на различных ингредиентах. Мы использовали рецепт среды для содержания дрозофил по методике, применяемой в ФГБУ "ЦСП" ФМБА России (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства) в лаборатории генетического мониторинга (СОП РИ 04.11.08.02-2014, СОП 03.11.03.02-2014) (Приложение 2). Подготовка пробирок и питательной среды осуществлялась сотрудником лаборатории МБТ ФИЦ КНЦ РАН Смирновой М.В.

### **1.2. Отбор дрозофил**

Стерильных мушек для эксперимента примораживали в чистой пустой пробирке в морозильной камере (-18 °С) в течение 40 секунд - 1 минуты для обездвиживания. Затем, при помощи бинокля, отсчитывали для каждой пробы 7 самцов и 14 самок. При помощи пера перемещали мух в пробирки со средой и укупоривали ватными пробками. Пробирки клали на бок, чтобы мухи не прилипли к среде, и, постепенно просыпаясь, сами на нее садились. После полного пробуждения мух, пробирки устанавливались в штатив.

## 2. Второй этап работы

**2.1.** 20 сентября подготовленные пробирки с мушками подвергли воздействию электромагнитного излучения. Пробирки в штативе устанавливались перед закрытой включенной микроволновой печью (мощность 700 Вт) на расстоянии 30 см. Облучение проводили на протяжении определенного времени: Проба 1 – контроль (облучению не подвергали), Проба 2 – время воздействия 5 минут, Проба 3 – 10 минут, Проба 4 – 20 минут (Приложение №3).

**2.2.** После облучения все пробы были помещены в одинаковые условия при достаточном освещении и температуре 23<sup>0</sup>С (Приложение №4).

В лабораторных условиях нормальная температура для дрозофилы 21-25<sup>0</sup>С. При этой температуре цикл развития ее от яйца до взрослой мухи равен примерно 10 суток. Развитие яйца длится 20 часов, а развитие личинки и куколки примерно 8 суток.

### Третий этап работы

Третий этап работы заключался в удалении мух-родителей из пробирок и последующим наблюдением за развивающимися личинками, куколками и имаго.

25 сентября мух из всех пробирок выпустили, оставив в пробирках лишь яйца и личинок (Приложение №5). Данные ежедневных наблюдений фиксировали (Приложение №6) и заносили в таблицу (Таблица 1).

В качестве параметров оценки возможного влияния СВЧ-излучения было взято сравнение соотношения полов в вариантах опыта с контролем и скорость прохождения жизненного цикла.

Таблица 1.

Скорость прохождения жизненного цикла дрозофилы в разных пробах

Дата	Проба №1	Проба №2	Проба №3	Проба №4
27.09	начало выползания личинок на стенки пробирки	личинки в каше	11 личинок выползли на стенки пробирок	2 куколки и личинки на стенках пробирки
28.09	-	-	13 куколок	13 куколок
29.09	5 куколок	9 куколок	61 куколка	64 куколки

30.09	33 куколки	54 куколки	123 куколки	106 куколок
01.10	66 куколок	105 куколок	140 куколок	120 куколок
02.10	101 куколка	127 куколок	151 куколка	130 куколок
03.10	0 мух	0 мух	Начало вылета мух (6 мух)	Начало вылета мух (9 мух)
04.10	0 мух	0 мух	29 мух	18 мух
05.10	7 мух	17 мух	47 мух	36 мух
06.10	6 мух	43 мухи	46 мух	20 мух
07.10	21 муха	44 мухи	18 мух	15 мух

Через неделю после закладки эксперимента появились первые куколки в пробе 4 (время воздействия микроволн 20 минут). 28 сентября в пробе 3 также появились куколки на стенках пробирки. В пробах 1 и 2 без изменений.

С 29 сентября во всех пробах начался процесс окукливания личинок, количество личинок в пробах 3 и 4 значительно больше, чем в пробах 1 и 2.

День вылета первых мушек зафиксирован 3 октября в пробах 4 и 5 (время воздействия микроволн 10 и 20 минут) (Приложение №7), тогда как в пробах 1 (контроль) и 2 (время воздействия микроволн 5 минут), первые мухи покинули пупарии лишь 5 октября.

Для наглядности полученные данные представили в виде диаграммы (Рис. 4,5).

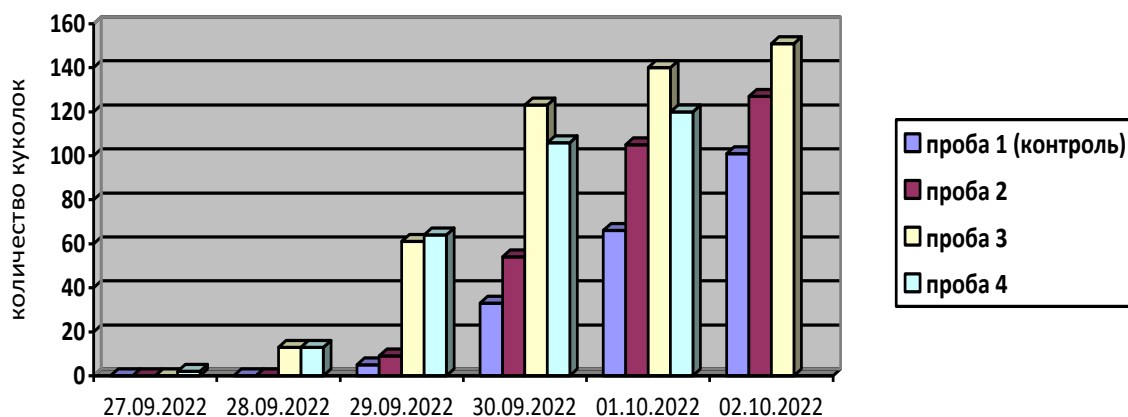


Рис. 4. Соотношение количества куколок в вариантах опыта за период 27 сентября – 02 октября 2022 относительно контроля

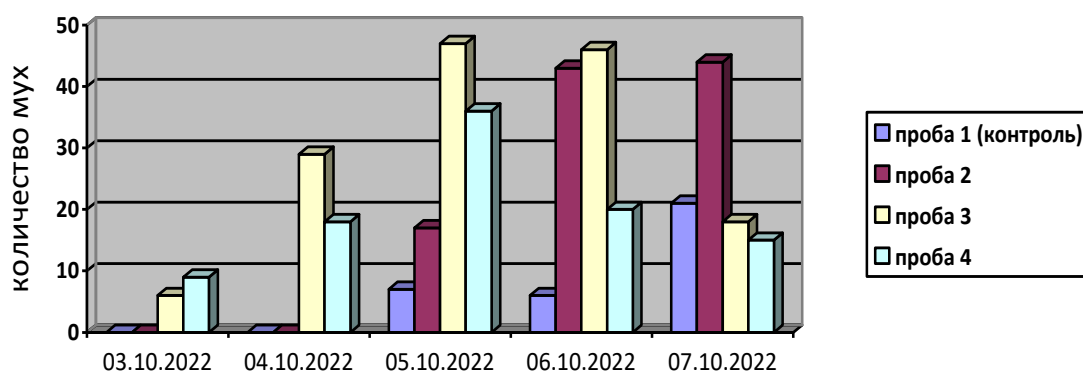


Рис. 5. Соотношение количества мух в вариантах опыта за период 03 - 07 октября 2022 относительно контроля

По мере вылупления мух (старались отбирать еще стерильных особей возрастом до 3 часов) отлавливали, усыпляли, подсчитывали количество и определяли их половую принадлежность (самец/самка) (Рис. б).



Рис. б. Определение половой принадлежности

Учет численности ежедневно выходящих из куколок особей проводили в течение 5 дней (Приложение №8).

Данные подсчета заносили в таблицу (Таблица 2).

Таблица 2

#### Соотношение полов мушек в разных опытных образцах

проба	№1		№2		№3		№4	
Дата	КОНТРОЛЬ		5 минут		10 минут		20 минут	
	самец	самка	самец	самка	самец	самка	самец	самка
03.10	0	0	0	0	3	3	4	5
04.10	0	0	0	0	13	16	8	10
05.10	5	2	6	11	17	30	14	22
06.10	3	3	19	24	25	21	11	9
07.10	11	10	19	25	6	12	6	9

Подсчет вылупившихся мушек закончили проводить 7 октября, в результате всего за период с 3 октября – 7 октября: в контроле вылупилось 34 мухи, проба 2 – 104 мухи, проба 3 – 146 мух, проба 4 – 98 мух.

При сравнении соотношения самцов и самок в опытных пробирках относительно контроля с помощью критерия Пирсона достоверной разницы не обнаружено.

Также в ходе исследования просматривали мушек под стерео бинокулярным микроскопом (увеличение \*40) на наличие дефектов тела, крыла и т.д. (Приложение №9). У некоторых особей из проб 2, 3 и 4 были обнаружены

дефекты крыла и тела, можем предположить, что причиной подобным отклонениям могло быть ускоренное развитие мушек.

### **Заключение**

В ходе выполнения работы мы проследили весь жизненный цикл развития дрозофилы фруктовой от яйца до имаго.

#### **Выводы.**

В результате проведенных исследований мы установили следующее:

- СВЧ-излучение микроволновой печи ускоряет прохождение жизненного цикла дрозофилой, это было отмечено как визуально, так и подсчетом куколок и наблюдением за превращением личинки в имаго.

- Ускорение в развитии может стать причиной появления дефектов тела мушек.

- Не обнаружено достоверной разницы в соотношении полов вылупившихся мух в опытных пробирках по сравнению с контролем.

Наша **гипотеза** подтвердилась: СВЧ-излучение оказывает влияние на жизненный цикл дрозофилы, а именно ускоряет прохождение метаморфоза.

## Список литературы

1. Родченко Д.А., Кизиченко М.С., Сарчук Е.В. Воздействие свч-излучения на организм человека: аспекты проблемы. Научное обозрение. Фундаментальные и прикладные исследования. 2020, №3. URL: <https://scientificreview.ru/ru/article/view?id=86> (дата обращения: 25.09.2022), <https://tomsk.bezformata.com/listnews/izluchenie-tormozit-razvitiie-drozofil/68622917/>
2. Григорьев Ю.Г., Степанов В.С. Формирование памяти (импринтинг) у цыплят после предварительного воздействия электромагнитных полей низких уровней // Радиационная биология. Радиоэкология, 1998.- Т.38.- № 2. - С. 223-231.
3. Григорьев Ю.Г., Степанов В.С., Григорьев О.А., Меркулов А.В. Электромагнитная безопасность человека. Справочно-информационное издание. Российский национальный комитет по защите от неионизирующего излучения, 1999. - 148 с.
4. Нахаева В.И. Общая генетика. Практический курс. - Флинта, 2016, 276 с.
5. Козак М.Ф. Дрозофила - модельный объект генетики. Учебно-методическое пособие. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет», 2007, 87 с.
6. Гладченко Б.И. Влияние электромагнитного излучения на прорастание и рост семян. -Евпатория, 2018, 19 с.
7. Lakhotia S.C., Ranganath H.A. Experiments with Drosophila for Biology Courses. Indian Academy of Sciences, Bengaluru, India, 2021, 634 с.
8. Генетический анализ на *Drosophila melanogaster*: Методические указания к практическим занятиям по большому практикуму. – Нальчик: Каб. - Балк. ун-т, 2009, 54 с.



Рис. 7. Микроволновая печь, используемая в работе

## Приложение № 2

## Рецепт питательной среды для поддержания линии Дрозофилы

Для приготовления среды для мушек делаются навески ингредиентов. На литр среды берётся: 1 л дистиллированной воды, 22,2 г сухих дрожжей (обязательно самых обычных, не термофильных), 76 г сахара, 45 мл патоки (можно заменить 25-30 г изюма без косточек, тщательно промытого и измельченного в ступке), 6 г микробиологического агара высокой очистки, 60 г манной крупы и 1,5 мл пропионовой кислоты. Обязательно нужно соблюдать все пропорции и методику приготовления каши.

В воду добавляют дрожжи и кипятят 40 мин на медленном огне. После кипячения дрожжей добавляют сахар, размешивают и добавляют манную крупу. Каша варится в течение 40 минут, затем добавляют агар и патоку (или изюм) и тщательно перемешивают. После остывания каши вводят 1,5 мл пропионовой кислоты (чтобы не допустить размножения грибков на среде), перемешивают, сразу же наливая часть каши в стаканчик и заливая в стерилизованные пробирки, не допуская потеков каши на стенках. Пробирки укупоривают пробками из стерильной ваты и оставляют до полного остывания и застывания среды (СОП РИ 04.14.08.02-2014, СОП 03.11.03.02-2014).

## Облучение проб с мухами



Рис. 9



Рис. 10



Рис. 11



Рис. 12



Рис. 13



Приложение №4



Рис. 14



Рис. 15

Приложение №5



Рис. 16



Рис. 17



Рис. 18

Приложение №6

Ежедневные наблюдения за развитием личинок

27 сентября 2022



Рис. 19



Рис. 20. Проба 1 (контроль)



Рис. 21. Проба 2



Рис. 22. Проба 3



Рис. 23. Проба 4

28 сентября 2022



Рис. 24



Рис. 25

29 сентября 2022



Рис. 26



Рис. 27. Проба 3



Рис. 28. Проба 4

**30 сентября 2022**



Рис. 29



Рис. 30. Проба 2



Рис. 31. Проба 3



Рис. 32. Проба 4

## Появление первых мушек

3 октября 2022



Рис. 33. Проба 3



Рис. 35. Новое поколение мух



Рис. 35. Проба 4

## Наблюдение и подсчет вылупившихся мух

4 октября 2022

5 октября 2022



Рис. 36



Рис. 37

6 октября 2022



Рис. 38



Рис. 39



Рис. 40



Рис. 41

## Дефекты развития мух



Рис. 42. Самка дрозофилы (контроль)



Рис.43. Самка дрозофилы с дефектом на теле (Проба №4, дата 5.10)



Рис. 44. Самка дрозофилы с дефектом на теле и дефектом крыла (Проба №2, дата 6.10)



Рис. 45. Крыло дрозофилы с дефектом (Проба №3, дата 6.10)

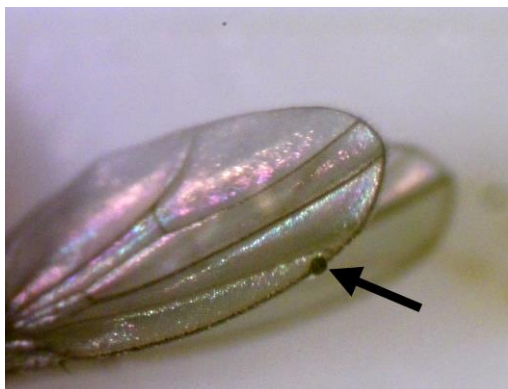


Рис. 46. Крыло дрозофилы с дефектом (Проба №3, дата 6.10)

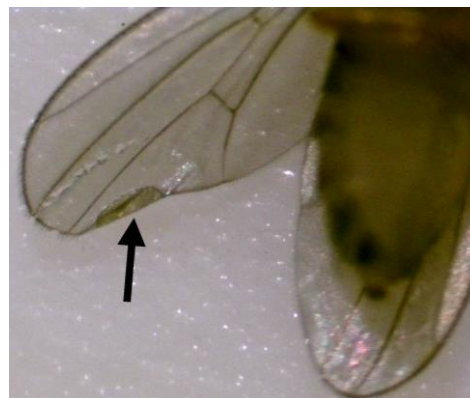


Рис. 47. Крыло дрозофилы с дефектом (Проба №3, дата 4.10)



Рис. 48. Крыло дрозофилы с дефектом (Проба №4, дата 4.10)