
Nina Zorić

Uticaj pesticida na razvojnu stabilnost i odnos polova kod vrste *Drosophila melanogaster*

*Sredinski stres, u koji se svrstava i zagađenje pesticidima, može da deluje na razvojnu stabilnost jedinki insekata unutar populacije tako što će eventualno dovesti do asimetričnosti krila. Cilj istraživanja je bio da se utvrdi da li pesticid Talstar 10 utiče na povećanje fluktuirajuće asimetrije (FA) krila, odnos polova i preživljavanje jedinki voćne mušice (*Drosophila melanogaster*). Takođe, cilj je bio i da se utvrdi da li FA može da se koristi kao bioindikator stresa u populacijama. Statističke značajnosti za razlike u FA su dobijene za FA4 indeks kod dužine krila mužjaka gajenih u kontroli i tretiranih četvrtinom hemiletalne koncentracije pesticida, kao i za razlike u dužinama krila insekata tretiranih polovinom i četvrtinom hemiletalne koncentracije. Rezultati ukazuju da se FA treba s oprezom koristiti kao indikator sredinskog stresa u prirodnim populacijama. Pesticid nije imao statistički značajan efekat na razlike u preživljavanje jedinki i promenu odnosa polova u populacijama.*

Uvod

Zagađivanje pesticidima, koje je naglo poraslo krajem 20. veka kao rezultat tehnološkog razvoja, može značajno uticati na genetičku strukturu populacija i na njihovo preživljavanje (Antipin *et al.* 2000). Usled sve učestalije upotrebe pesticida javlja se potreba za istraživanjem ekoloških i evolucionih posledica na živa bića. Kao organizmi koji imaju kratak životni ciklus voćne mušice (*Drosophila*) su veoma pogodni organizmi za genetička istraživanja. Razvi-

će krila kod *Drosophila* je dobro proučeno, a raspored vena na njihovim krilima omogućava precizno pozicioniranje referentnih tačaka pri merenju različitih parametara.

Kao posledica stresa kome su jedinke unutar populacije izložene može da se javi asimetričnost krila. Prisustvo razvojne nestabilnosti može da ukaže na postojanje stresa kao sredinskog faktora na populaciju na koju deluje (Stamenković-Radak *et al.* 2007). Razvojna stabilnost je rezultat procesa koji se opiru poremećajima razvojne putanje u okviru određene sredine (Palmer 1994). Mera razvojne stabilnosti je fluktuirajuća asimetrija (FA) bilateralno simetričnih karakteristika koja meri devijacije od idealnog stanja simetrije i determiniše nivo genomskog i sredinskog stresa (Stamenković-Radak *et al.* 2007). Neka istraživanja su pokazala da jedinke unutar populacija koje se nalaze pod stresom imaju veću FA od jedinki koje nisu izložene stresu (Leamy *et al.* 2005). Ipak, hipoteza da stres uzrokovan zagađivačima deluje na razvojnu stabilnost još nije dokazana (Vollestad *et al.*, 1998).

Pored FA, posledica delovanja stresa na populaciju može da bude i promena odnosa polova (Vartiainen *et al.* 1999). U populacijama koje se polno razmnožavaju, teorija predviđa da je jedina evoluciono stabilna strategija u slučaju 1:1 odnosa polova (Doner *et al.* 1983). Odnos polova u populaciji je mera adaptiranosti organizama na uslove sredine (Shuker 2005).

Cilj ovog rada je da se utvrdi uticaj pesticida na razvojnu stabilnost *Drosophila melanogaster*, praćenje fekunditeta ženki da bi se odredilo preživljavanje. Cilj je bio i da se utvrdi odnos polova mužjaka i ženki u potomstvu svake ženke (praćen je bio ceo životni vek jedinke).

Nina Zorić (1989), Novi Sad, Maksima Gorkog 48/1, učenica 4 razreda Gimnazije „Isidora Sekulić“ u Novom Sadu

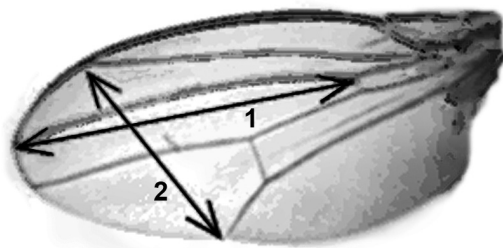
MENTOR:
Marija Savić, asistent, Biološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Materijal i metode

Pesticid kojim je delovano na *Drosophila melanogaster* (voćne mušice) je Talstar 10, kontaktni insekticid za folijarnu primenu i primenu preko zemljišta. Pesticid Talstar10 je odabran zato što je u širokoj upotrebi u agroekosistemima. Korišćen je pesticid kao stresni faktor kako bi se utvrdilo njegovo dejstvo na varijabilnost morfoloških osobina kod *Drosophila melanogaster* kao model organizmu.

Eksperimentom su obuhvaćene tri eksperimentalne grupe *Drosophila melanogaster*. Prva grupa voćnih mušica je kontrolna (na koju nije delovano pesticidom). Druga grupa mušica je uzgajana u flakonima sa hranljivom podlogom u koju je postavljen pesticid u koncentraciji koja je polovina poluletalne doze ($C_1 = 0.003\%$), dok je u treću grupu u flakone stavljena hranljiva podloga koja je sadržala koncentraciju pesticida koja iznosi četvrtinu poluletalne doze pesticida ($C_2 = 0.0015\%$). Za svaki tretman je korišćeno po 15 ženki starih 3 do 5 dana. Temperatura na kojoj su održavane mušice u flakonima je bila 23°C , što je optimalna temperatura za gajenje mušica.

U svakom flakonu svake eksperimentalne grupe je bila jedna nevinna ženka i 2 nevina mužjaka koji su bili ostavljeni da se pare jedan dan. Posle jednog dana su iz flakona odvojeni mužjaci, a ženke su ostavljene u flakonima u kojima su polegale jaja. Ženke su potom prebačene u nove flakone (s već pripremljenom hranljivom podlogom), gde su u narednih 24 časa polagala nova jaja. Postupak je ponovljen i u naredna 24 časa, čime su dobijene tri grupe jaja u flakonima. U sve tri grupe flakona je prebrojavan broj jaja koje su ženke postavile. Ženke su prebacivane svakih 5 dana u nove flakone da polažu jaja. Potom su prebrojavane izglele jedinke kako bi se utvrdio odnos polova potomstva svake ženke do kraja njenog života. Vršeno je merenje dva bilateralno simetrična karaktera: dužine i širine krila. Sa zaleđenih jedinki pincetom su otkidana krila, koja su fiksirana na predmetna stakla sa dvostrano-lepljivom trakom, a zatim zaštićena pokrovnim ljupticama. Dužina krila određena je kao rastojanje između poprečne anteriorne vene i vrha treće longitudinalne vene. Širina krila predstavlja rastojanje između vrha druge i pete longitudinalne vene. Merenje je vršeno na fotografskim snimcima rezolucije 96×96 dpi, pomoću softverskog paketa Image Tool (3.1). Bele-



Slika 1. Merenje parametara krila (1 – dužina, 2 – širina)

Figure 1. Measured wings' parameters (1 – length, 2 – width)

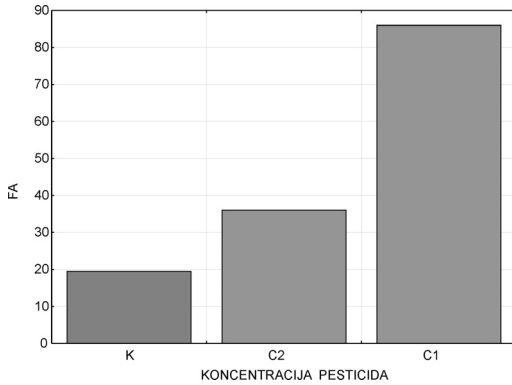
žene su vrednosti u pikselima za levo (L) i desno (D) krilo svake jedinke.

Fluktirajuća asimetrija predstavlja obrazac bilateralne varijacije u uzorku jedinki, gde je prosečna razlika leve i desne strane ($L - D$) nula i gde je variranje normalno raspoređeno oko tog proseka. U studijama se za opisivanje nivoa FA u uzorku koristi veći broj indeksa: FA1–FA18 (Palmer 2001), ali su najčešće upotrebljavaju FA1 i FA4. Indeks FA1 se izračunava kao prosečna vrednost apsolutne razlike leve i desne strane ($FA1 = \langle |L - D| \rangle$), a indeks FA4 kao varijansa razlike $FA4 = \text{var}(L - D)$. Obrada podataka je izvršena u skladu sa preporukom u radovima Palmera (1996) i Palmera i Strobecka (2001).

Rezultati i diskusija

Statističke značajnosti za promenu u fluktirajućoj asimetriji su dobijene za indeks FA4 idužine krila kod mužjaka gajenih u kontroli i pod tretmanom C2, i ($p < 0.001$), kao i između tretmana C1 i C2 ($p < 0.01$). Ove značajnosti su dobijene samo za dužinu krila kod mužjaka, što ukazuje da su mužjaci osetljiviji na dejstvo istraživanog stresnog faktora (pesticida) nego ženke. Vrednosti FA4 indeksa za dužinu krila mužjaka kontrole, C1 i C2 grupe su prikazane na slici 2.

Simetrija jedinke može da ukazuje na kvalitet genotipa te individue. Ako jedinka pod nepovoljnim uslovima sredine (sredinski stres) može da održava nisku FA to ukazuje na njenu sposobnost u savla-

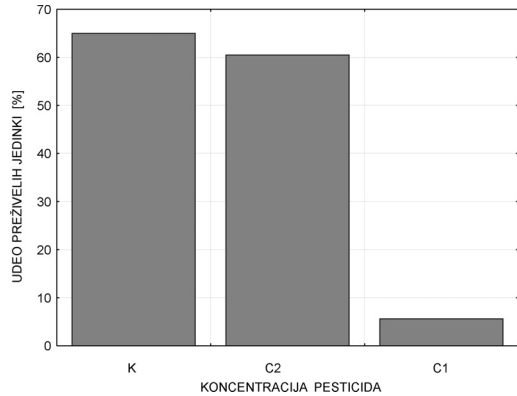


Slika 2. Zavisnost fluktuirajuće asimetrije (FA4) za dužinu krila mužjaka od tretmana (K – kontrola, C1 – polovina, a C2 – četvrtina letalne doze pesticida)

Figure 2. Fluctuating asymmetry (FA4) for wings' length in males vs treatment (K – control, C1 – 1/2 of hemilethal pesticide concentration, C2 – 1/4 of hemilethal pesticide concentration)

davanju sredinskog stresa. Pretpostavka je da povećan sredinski stres onemogućava mehanizam homeostaze, dovodi do povećanja fenotipske raznolikosti i povećanja FA. U ovom istraživanju nisu dobijene povećane vrednosti FA u svim uzorcima tretiranim pesticidom, a uzrok bi mogao da bude veća smrtnost jedinki koje su osetljivije na ovaj vid stresa (Vollestad *et al.* 1998). Shodno tome, FA je merena na jedinkama koje su manje osetljive što upućuje na to, da ovu karakteristiku populacije treba s oprezom razmotriti kao potencijalnog indikatora sredinskog stresa.

Preživljavanje jedinki i odnos polova nisu pokazali statistički značajne razlike u kontrolnim i eksperimentalnim flakonima. Očekivano je smanjeno preživljavanje i promena odnosa polova u odnosu na 1:1. Pretpostavka je da statističke značajnosti nisu dobijene zato što je ispitivanje rađeno samo na jednoj generaciji, pri korišćenju manje koncentracije pesticida od onih koje se inače koriste. Kako je cilj istraživanja bilo ispitivanje razvojne stabilnosti i odnosa polova, povećane koncentracije pesticida bi dovele do smrti velikog broja jedinki i dobijeni uzorak ne bi bio dovoljan, niti validan za istraživanje FA. Na slici 3 je prikazano preživljavanje jedinki na koje nije delovano pesticidom (K) i na koje je delovano pesticidom koncentracijama C1 i C2.



Slika 3. Preživljavanje jedinki u zavisnosti od tretmana (K – kontrola, C1 – četvrtina, a C2 – polovina letalne doze pesticida)

Figure 3. Survival of specimens vs treatment. (K – control, C1 – 1/2 of hemilethal pesticide concentration, C2 – 1/4 of hemilethal pesticide concentration)

Zaključak

Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da pesticid nije delovao očekivano na povećanje indeksa fluktuirajuće asimetrije kod krila *Drosophila*. Pretpostavka je bila da će pesticid uticati na povećanje FA, te da bi FA mogao da se koristi kao bioindikator stresa u životnoj sredini. Statistički značajan efekat promene FA uočen je samo na krilima mužjaka, što ukazuje da su mužjaci osetljiviji na dejstvo pesticida nego ženke. Ukoliko je uzrok odsustva promene FA veća smrtnost jedinki koje su osetljivije na ovaj vid stresa (Vollestad *et al.* 1998), FA bi trebalo s oprezom koristiti kao potencijalnog indikatora sredinskog stresa.

Nasuprot početnim pretpostavkama, tretman pesticidom nije doveo do značajnih promena u fekunditetu, preživljavanju i odnosu polova kod *Drosophila*. Neka ranija istraživanja su takođe pokazala da ne postoji korelacija između sredinskog stresa i FA, kao ni između komponenata fitnesa i FA (Clarke 1993). Usled nepostojanja efekta pesticida na preživljavanje i promenu odnosa polova može se zaključiti da ovaj vid stresa ne mora dovesti do genetičkih i evolucionih promena u populacijama insekata.

Literatura

Antipin M. I., Imasheva A. G. 2001. Genetic Variability and Fluctuating Asymmetry of Morphological traits in *Drosophila melanogaster* Reared on a Pesticide-containing medium. *Russian journal of genetic*, **37**: 247

Arnaiz R., Morales P., Cobos M. 1986. *Lead acetate and lead nitrate introduced sex-linked recessive lethal mutations in mature sperm of Drosophila melanogaster*. National University of Mexico

Clarke. G. M 1993. Fluctuating asymmetry of invertebrate populations as a biological indicator of environmental quality. *Environ Poll.*, **82**: 555.

Polak M. 1993. Parasites increase fluctuating asymmetry of male *Drosophila nigrospiracula* – implications for sexual selection. *Genetica*, **89**: 255.

Shuker D., Pen I., Pencen A., Reece S., West S. 2005. Sex ratio under asymmetrical local mate competition: theory and test with parasitoid wasp *Nasonia vitripennis*. *Behavioral Ecology*, **17**: 345

Vartiainen T., Kartovaara L., Tuomisto J. 1999. *Environmental Chemical and Changes in sex ratio: Analysis over 250 years in Finland*. National Public Health Institute of Finland

Vollestad L. A., Fjeld E., Haugen T., Oxnevad S. A. 1998. Developmental instability in grazing (*Thymallus thymallus*) exposed to methylmercury during embryogenesis. *Environmental pollution*, **101**: 349.

Nina Zorić

Developmental Instability and Sex Ratio in *Drosophila melanogaster* Exposed to Pesticide Talstar 10

Environmental stress, which entails pesticide pollution, can have influence on developmental stability in insects by affecting their wings' symmetry. The aim of this research was to determine the effect of pesticide Talstar 10 on fluctuating asymmetry (FA), sex ratio and viability of *Drosophila melanogaster*. And to test the hypothesis that FA could be used as a biological indicator of stress in populations. Statistically significant differences in FA4 index were obtained in male wings lengths between control and $\frac{1}{2}$ of hemilethal, as well as $\frac{1}{4}$ of hemilethal concentration treatments. There was no significance for differences in viability and sex ratios. The results of this study show that FA should be carefully used as indicator of environmental stress. 