

紫外辐射对野生型、黑檀体和黄体果蝇寿命、繁殖力、求爱行为及生化指标的影响

王哲鹏^{①②}, 刘瑞芳^②, 王安如^③, 杜丽丽^①, 邓学梅^{①*}

① 中国农业大学动物科技学院, 北京 100094;

② 内蒙古农业大学职业技术学院, 包头 014109;

③ 中国农业大学动物医学院, 北京 100094

* 联系人, E-mail: deng@cau.edu.cn

收稿日期: 2007-11-26; 接受日期: 2008-04-19

国家自然科学基金(批准号: 30471233)和国家重点基础研究发展计划(批准号: 2006CB102100)资助项目

摘要 黑色素在紫外辐射(UVR)保护方面有重要作用. 所以, 不同体色果蝇(*Drosophila malenogaster*)体内色素和抗氧化能力的差异可能影响它们对 UVR 的敏感性. 实验通过测定遭受 UVR 处理的野生型(w, 灰色)、黑檀体(e, 黑色)和黄体果蝇(y, 黄色)的寿命、繁殖力和求爱行为, 对三品系果蝇的 UVR 敏感性进行研究. UVR 主要通过诱发自由基来对机体造成氧化损伤, 所以, 本实验通过测定果蝇体内自由基、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量来对果蝇抗氧化能力和氧化损伤状态进行分析. 结果发现, w 无论是在对照组还是在紫外线处理组均具有最高的寿命和繁殖力; e 和 y 在对照组的寿命和繁殖力差异不显著, 但在紫外线处理组 e 的这两项指标均显著高于 y ($P < 0.0001$). 另外, 本实验发现紫外辐射对果蝇的求爱行为也有不利影响. 利用电子顺磁共振谱(EPR)对辐射诱发果蝇体内 $O^{\cdot -}$ 水平的检测结果显示, 5 min 紫外辐射处理的确可诱使果蝇体内自由基水平升高, 且这种变化在 y 体内尤为明显. 对 SOD 活性的分析发现, 紫外辐射处理并不影响果蝇体内的 SOD 活性, 因此我们将对照组与紫外线处理组的数据合并, 结果发现 w 体内 SOD 活性最高, 且与 y 的差异达显著 ($P < 0.05$); e 和 y 体内 SOD 活性无显著差异 ($P > 0.05$). 对 MDA 分析的结果显示, 随 UVR 辐射时间的延长, 果蝇体内 MDA 含量显著升高 ($P = 0.0495$). 以上结果说明, 紫外辐射对果蝇寿命、繁殖力以及求爱行为方面的不利影响可能与其诱发的自由基氧化损伤有关. 实验发现 w 对紫外辐射的抵抗力最强, 这可能与其在自然条件下具有明显高的寿命、繁殖力有关, 而且 w 体内高水平的 SOD 也可能是一个原因. 与 e 相比, y 对 UVR 更敏感. 但作为体内重要抗氧化酶之一的 SOD, 并不能对现在的结果做出解释. 本研究推测 e 和 y 表皮沉着的色素在吸收紫外辐射、阻止辐射穿透表皮及清除自由基方面的差异是造成它们对 UVR 不同敏感性的原因之一.

关键词

紫外辐射
果蝇
色素
自由基

研究发现动物对重金属或辐射的耐受性与其体内沉着色素的种类和数量有关^[1]. 因此, 各种体色果蝇(*Drosophila malenogaster*)对 UVR 的敏感性可能存

在差异. 本实验以 w, e 和 y 果蝇为研究对象, 对这种假设进行了研究. 前人的研究证实, 果蝇对各种辐射, 特别是电离辐射较为敏感. 例如, 对果蝇进行一定辐

射处理后, 将导致果蝇的寿命和繁殖力降低, 甚至发生基因突变^[2-5]. 但是, 紫外辐射对不同体色果蝇寿命、繁殖力、求爱行为及一些生化指标方面的影响, 目前的报道还很少.

在果蝇中, 体色是一种变异十分丰富的性状^[6]. Latocha 等人^[1]曾用热裂解气相色谱-质谱法对 w、e 和 y 体内色素进行分析后发现, w 和 e 体内沉着的色素主要是真黑色素(eumelanin), 而 y 体内沉着的色素主要是伪黑色素(pheomelanin)^[1]. 由于这两种色素的化学结构不同, 所以它们在吸收紫外线, 阻止紫外辐射穿透表皮及清除自由基方面存在显著差异, 这可能影响 w、e 和 y 对 UVR 敏感性^[7,8].

UVR 对昆虫和高等动物具有广泛的生物学效应. 除有利方面外(如促进维生素 D 的合成), 其不利方面更应引起人们的关注^[9]. 紫外辐射通过两种途径对生物体造成损害: (1) 直接损伤途径. UVR 可使 DNA 产生嘧啶二聚体导致基因突变^[10]; (2) 间接损伤途径. UVR 可诱导机体产生各种自由基, 如超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)、羟自由基($\cdot OH$), 及各种非自由基氧化物, 如过氧化氢, 氧原子^[9]. 这些活性氧成分(reactive oxygen species, ROS)将对 DNA、脂膜及一些其它细胞成分造成氧化损伤. 通常, 体内由于代谢过程产生的自由基将被抗氧化物酶灭活, 保护机体免受氧化损伤. 但是, 当机体遭受严重的辐射时, 体内自由基将大量产生, 对机体造成危害^[11]. 为了证实 UVR 能够穿透果蝇表皮并造成机体氧化损伤, 实验中我们用 EPR 测定辐射处理后果蝇体内的自由基含量, 对 UVR 的第二种损伤途径进行研究^[12].

尽管, 外界不利因素可诱导自由基的大量产生, 但果蝇可通过体内抗氧化酶系来清除自由基, 保护机体免受氧化损伤. 这一酶系由各种抗氧化物酶组成, 如超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化氢酶, 谷胱甘肽还原酶等. 这些酶可以有效清除 ROS, 防止它们对机体造成损伤^[11,13]. 抗氧化物酶作为一种应激酶对机体正常的衰老过程没有影响, 但当机体处于应激状态时却可以显著延长寿命^[13]. 因此, 在实验中我们对 3 个品系果蝇体内 SOD 活性进行分析, 以评价它们抗氧化能力方面是否存在差异. 此外, UVR 能诱导机体产生脂质过氧化物, 这些物质含量的高低能反映出机体遭受氧化损伤的程度^[11,14]. 因为, UVR 诱导产生

自由基能氧化生物膜中的多不饱和脂肪酸(PUFA), 产生各种脂质过氧化物, 其中之一就是丙二醛(MDA). 各种脂质过氧化物协同 ROS 一起对细胞中各种成分造成氧化损伤, 导致机体衰老^[11,15]. 因此, 实验中我们通过测定果蝇体内 MDA 含量来评价 UVR 对机体的损伤程度.

在本研究中, 我们首先研究了 UVR 对 3 品系果蝇寿命和繁殖力的影响. 其次, 我们就 UVR 对果蝇求爱行为的影响进行了分析. 求爱行为是由雄性果蝇做出的一系列性别特异性行为, 受中枢神经系统调控^[16,17]. 而中枢神经系统对自由基损伤十分敏感^[18], 所以我们推测 UVR 可能对果蝇求爱行为产生影响. 最后, 我们对果蝇体内自由基水平、SOD 活性和 MDA 含量进行了测定. 目的在于通过对这些指标的分析来评价 3 个不同体色果蝇对 UVR 的敏感性是否存在差异.

1 材料与方法

1.1 果蝇品系和培养条件

3 个不同体色果蝇品系: 野生型(w, 灰色)、黑檀体(e, 黑色)和黄体(y, 黄色), 均由中国农业大学动物科技学院吴常信教授提供. 其中 y 缺乏真黑色素, 而 w 和 e 体内色素差异较小, 主要是真黑色素^[1,19]. 在寿命和繁殖力实验中果蝇分别被培养在直径 2.5 cm、高 18 cm 和直径 1.5 cm、高 13 cm 的玻璃管中, 12 h 光照, 25℃. 培养基主要成分是玉米、琼脂、酵母和红糖等, 4 天更换一次培养基.

1.2 试剂和仪器

实验所用试剂主要有 CO_2 、乙醇(AR)、醋酸(AR)、PBS、5,5-二甲基-1-吡咯啉-N-氧化物(DMPO, 购于 Sigma-Aldrich 公司).

实验所用紫外灯(TC2326)发出紫外线的波长为 253.7 nm, 功率 15 W, 额定电压 220 V, 距中心光源 15 cm 处的辐射强度为 $500 \mu W/cm^2$, 由北京东进记录科技有限公司生产. EPR 仪型号为 Bruker 牌 ER-200D 型, 德国生产.

1.3 UVR 处理

将果蝇轻度麻醉后收集于 100 mm×10 mm(直径

×高)的培养皿内,并以网罩遮盖防止果蝇飞走。培养皿被置于紫外灯正下方 15 cm 处,本实验在紫外辐射期间控制温度在 25℃,以防热应激。照射完成后,再次将果蝇轻度麻醉收集于相应培养管培养,进行下面的实验。

1.4 寿命实验

在寿命实验中,每个培养管饲养 50 只刚羽化的果蝇,雌雄各半。实验被分为 4 个组,每个组做 4 次重复实验。1 组为对照组,2、3 和 4 组果蝇分别接受 3、5 和 7 min UVR。每天统计死果蝇数,直到所有果蝇死亡。

1.5 繁殖力和求爱行为实验

在繁殖力实验中,每管放置一对刚羽化的雌雄果蝇,雌蝇为羽化后 8 h 内收集的处女蝇。亲本果蝇在管内交配、产卵一周后被清除。然后,从每只管出现第一只子代果蝇开始,连续统计 10 天羽化的子代果蝇数。实验设置 3 个组:1 组为对照组,每个品系的重复数为 30;2 组果蝇进行 2 min UVR, *w*, *e* 和 *y* 的重复数分别为 29、47 和 45;3 组果蝇进行 3.5 min UVR, *w*, *e* 和 *y* 的重复数分别为 33、46 和 30。

在求爱行为实验中,为了避免雌雄果蝇以前的性经历影响实验中的求爱行为,雌雄果蝇在正式实验前被隔离 2 天^[20]。然后,一对雌雄果蝇在不进行麻醉的情况下被吸入一只带有培养基的试管中进行求爱行为观察。所有的观察工作均在解剖镜(×10)下完成,时间为 30 min。如果在观察期内果蝇有求爱行为,我们将计算求爱指数(CI),即观察期内雄果蝇发出求爱行为所用时间与总时间的比值^[21]。这些行为包括追逐雌蝇,用前腿轻敲雌蝇腹部,伸出一支翅膀并不断振动产生求爱歌,尝试交配等^[17]。在观察期内不发出任何求爱行为的果蝇将不被统计。实验分对照、2 min UVR 和 3.5 min UVR 3 个组,每组设置 20 个重复。3 品系果蝇分组方法相同。

1.6 EPR 实验

由于 $O^{\cdot-}$ 寿命较短,实验中我们用自旋捕捉剂 DMPO 与 $O^{\cdot-}$ 结合,产生的 DMPO-OOH 具有较长的寿命,且具有特征性 EPR 谱,从而可以间接分析生物体内 $O^{\cdot-}$ 水平^[22]。DMPO 水溶液用活性炭和孔径为 0.45

μm Whatman 滤膜纯化后,冷冻储藏。实验用水均为三蒸水。实验分两组:对照组和 5 min UVR 组,每组由 20 只果蝇组成,雌雄各半。在 UVR 处理后,立即对果蝇进行组织匀浆,所用匀浆缓冲液由 0.5 mL DMSO(100 mmol/L)和 0.5 mL PBS(pH 7.4)组成。匀浆在 3600 r/min, 4℃ 下离心 3 min,将所得上清液加入一个特制的石英管中,再将石英管置入 EPR 检测腔中进行测定。测定工作在室温下完成,测定条件为: X 波段,微波频率是 9.17 GHz,微波功率为 30 mW,调幅为 0.1 G,时间常数为 0.25 s,接收增益为 6.3×10^4 ^[22]。

1.7 SOD 和 MDA 实验

SOD 和 MDA 测定工作均在果蝇 1 周龄时进行。实验分为对照、3 min UVR 组和 5 min UVR 组,每组做 10 个重复,每个重复由 20 只果蝇组成,雌雄各半。对各组果蝇先进行组织匀浆,匀浆缓冲液为 0.5 mL 0.9% NaCl 溶液,匀浆过程在冰浴中完成。匀浆组织在 3600 r/min 下离心 10 min,然后提取上清液用于 SOD 和 MDA 测定。匀浆中总蛋白含量、SOD 活性和 MDA 含量的测定用南京建成生物工程有限公司生产的试剂盒完成。SOD 和 MDA 的单位分别为 U/mg 蛋白和 nmol/mg 蛋白。

1.8 统计分析

在寿命实验中,各品系生存曲线间的显著检验用 Wilcoxon 非参数秩和检验法检验。中位寿命(死亡率达 50% 果蝇的寿命)的计算和生存曲线的绘制均由 SAS V.8.02 中 Lifetest 程序完成。三品系果蝇中位寿命、平均 CI 值、SOD 活性和 MDA 含量的比较由新复极差法(LSR)和最小显著差数法(LSD)完成。此外,对繁殖力、SOD 和 MDA 实验所得资料,我们还对 UVR 效应进行了单因素方差分析。显著水平为 $P < 0.05$,平均数被表示为 $\bar{x} \pm SD$ 。所有计算结果均由 SAS V.8.02 软件(SAS Institute, Cary, NC)计算所得。

2 结果

2.1 *w*, *e* 和 *y* 寿命分析

在寿命实验中, *w* 无论在对照组还是在 3、5 和 7 min UVR 组的寿命均显著高于 *e* 和 *y* ($P < 0.0001$)。 *e* 和 *y* 在对照组寿命差异不显著($P = 0.0698$),但在 3 个

UVR 组 *e* 寿命均显著高于 *y* (图 1). 在对 3 品系果蝇中位寿命分析后也有类似结果得出, 如在 3 min UVR 组 *w* 的中位寿命最高, 为 36.6 ± 2.1 天; *e* 次之, 为 21.4 ± 3.2 天; *y* 最低, 为 15.5 ± 2.4 天($P < 0.05$). 5 和 7 min UVR 组的结果也是如此(表 1).

2.2 繁殖力和求爱行为实验

在对 3 品系果蝇进行 2 min 和 3.5 min UVR 处理后, 发现 UVR 能显著降低果蝇繁殖力($F_{(2,317)}=173.42, P < 0.0001$), 且这种损害作用随 UVR 时间的

延长而加剧(图 2). 如同寿命实验结果所示, 3 品系果蝇在 UVR 处理后寿命存在显著差异, 繁殖力实验的结果也是如此. 本实验发现 *w* 不论在对照组还是 UVR 组的繁殖力($\bar{x} = 81.1, 55.9$ 和 49.4 只子代/对亲本)均显著($P < 0.05$)高于 *e* 和 *y*. 而 *e* 和 *y* 在对照组中的繁殖力无显著差异($P = 0.6998$), 平均每对亲本的子代数分别为 55.0 和 56.5, 但在 2 和 3 min UVR 组 *e* 的繁殖力显著高于 *y* ($P < 0.05$), *e* 为 39.2 和 15.8 只子代果蝇/对亲本, 而 *y* 为 21.6 和 7.1 只子代果蝇/对亲本.

表 1 *w, e* 和 *y* 果蝇在各组的中位寿命^{a)}

组别	50%的果蝇幸存的天数		
	<i>w</i>	<i>e</i>	<i>y</i>
对照	62.0 ± 2.2^a	55.3 ± 6.7^a	52.3 ± 8.2^a
3 min UV	36.6 ± 2.1^a	21.4 ± 3.2^b	15.5 ± 2.4^c
5 min UV	26.0 ± 1.6^a	17.9 ± 2.3^b	13.4 ± 3.6^c
7 min UV	15.2 ± 0.84^a	11.0 ± 2.5^b	6.4 ± 0.9^c

a) 表中均值由 4 次重复实验数据计算得来, 每组实验 50 只果蝇; 各组内品系间中位寿命的比较采用新复极差法, 相同字母为差异不显著, 不同字母为差异显著, 显著水平为 $P < 0.05$

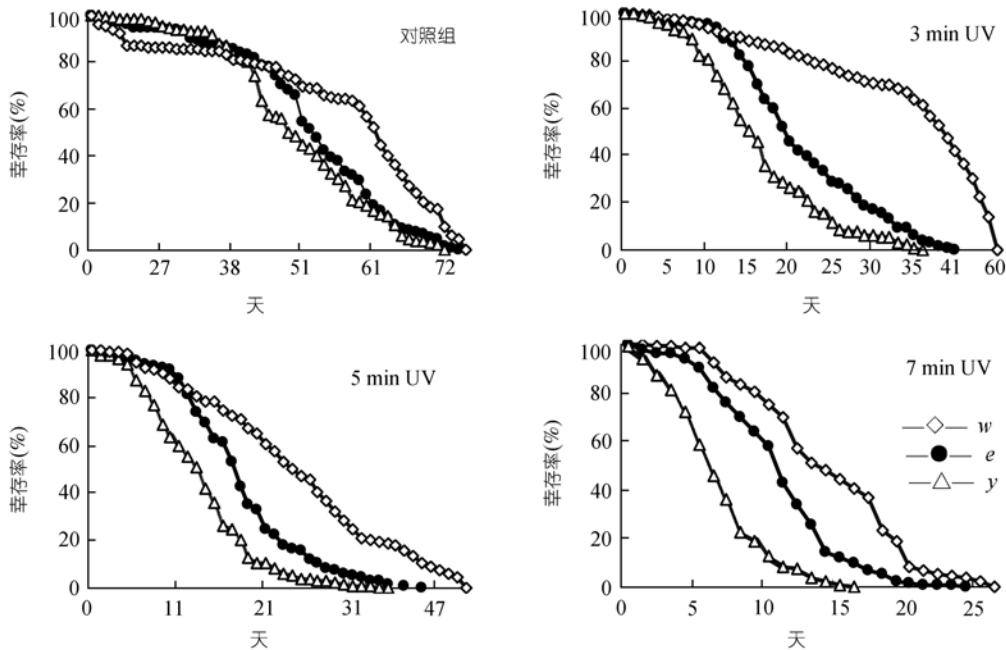


图 1 3 品系果蝇在对照和 UVR 组的幸存曲线

对各品系果蝇的幸存曲线进行 Wilcoxon 秩和检验后发现, *w* 在各组的幸存率(%)均显著高于 *e* 和 *y* ($P < 0.0001$), *e* 和 *y* 在对照组幸存率(%)无显著差异, 而在 3 个 UVR 组 *e* 的幸存率(%)均显著高于 *y* ($P < 0.0001$). 每条幸存曲线由 4 次重复实验所的数据绘制而成, 每组实验 50 只果蝇. NS: 差异不显著

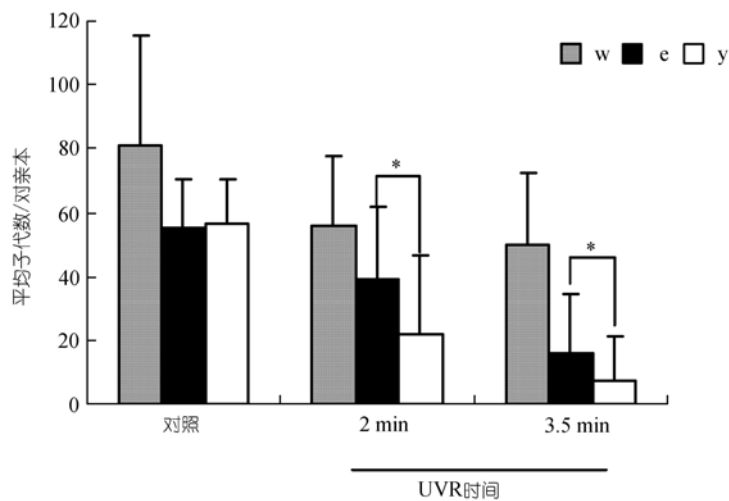


图2 UVR对w,e和y繁殖力的影响

每条柱线由30~47个重复计算的得来. 由图可见UVR能降低果蝇繁殖力($F_{(2,317)} = 173.42, P < 0.0001$), 且UVR时间越长, 对繁殖力的影响越大. 此外, UVR对3品系果蝇繁殖力的影响也存在显著差异, w在3组中均具有最高繁殖力, e和y在对照组的繁殖力差异不显著, 而在UVR组e的繁殖力均显著高于y(* $P < 0.05$)

在接下来的实验中我们就UVR对果蝇求爱行为的影响进行了分析, 结果如表2所示, 果蝇在对照组的平均CI值均高于UVR组, 个别组间差异达到显著水平(表2). 此外, 我们发现UVR对y求爱行为的影响比对w和e大. 例如, 与对照组相比, y在2 min和3.5 min UVR组的CI分别降低了60.3%和64.7%, 而w和e降低的比率为34.8%, 43.5%和12.7%, 38.2%.

2.3 EPR测定果蝇体内O⁻实验

结果如图3所示, 实验所得DMPO-OOH的EPR信号特征与前人文献^[22]报道一致, $\alpha_N = 14.2$ G, $\alpha_\beta^H = 11.2$ G和 $\alpha_\gamma^H = 1.3$ G. 与对照相比, 3品系果蝇在5 min UVR处理后体内O⁻信号明显增强, 这表明本实

验中UVR可以穿透果蝇表皮诱导体内自由基水平升高. 而且这种信号的变化在y中尤为明显.

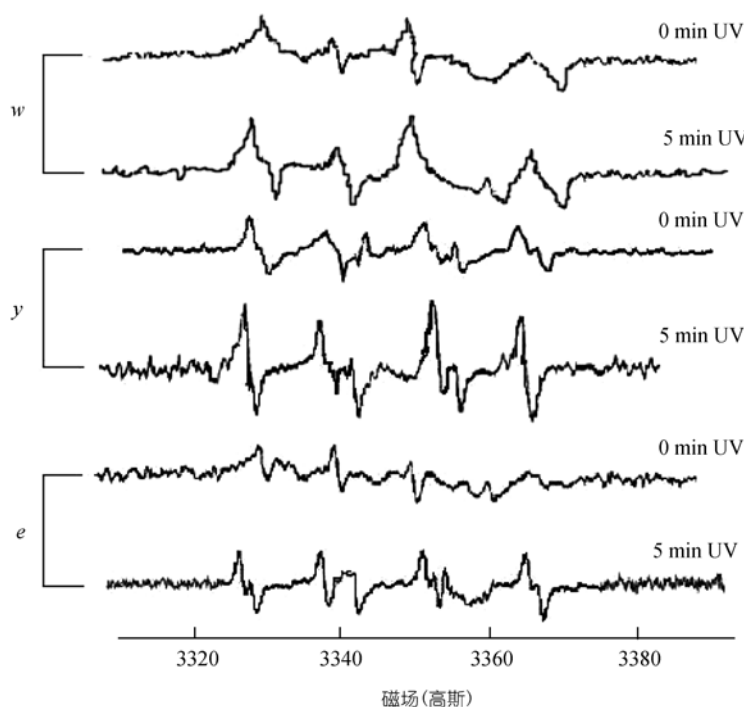
2.4 UVR对果蝇体内SOD活性的影响

对UVR效应进行单因素方差分析后, 本实验发现UVR对果蝇体内SOD活性无显著影响($F_{(2,87)} = 2.99, P = 0.0552$). 如图4(a)所示果蝇体内SOD活性并不随着UVR时间的变化而变化. 因此, 将3组数据进行合并, 进一步分析品系间SOD活性有无显著差异. 结果如图4(b)所示, w体内SOD水平最高, 为 221.7 ± 6.0 U/mg蛋白, 且与y体内SOD水平差异达显著($P < 0.05$). e体内SOD水平略高与y, 分别为 213.9 ± 15.1 和 211.0 ± 14.7 U/mg蛋白, 但差异不显著.

表2 UVR对果蝇求爱行为的影响^{a)}

组别	CI(±SD)		
	w	e	y
对照	55 ± 4	46 ± 5	68 ± 6
2 min UV	48 ± 6	30 ± 2**	27 ± 3**
3.5 min UV	34 ± 3**	26 ± 5**	24 ± 7**

a) 每一均值由20个重复计算得来. ** 2 min和3.5 min UVR组分别与对照组相比差异极显著 $P < 0.01$, 多重比较采用最小显著差数法(LSD)

图 3 DMPO 诱捕 $O_2^{\cdot-}$ 的 EPR 波谱

从图中可见, 在 5 min UVR 处理后 EPR 信号明显增强, 在 y 中变化尤为明显

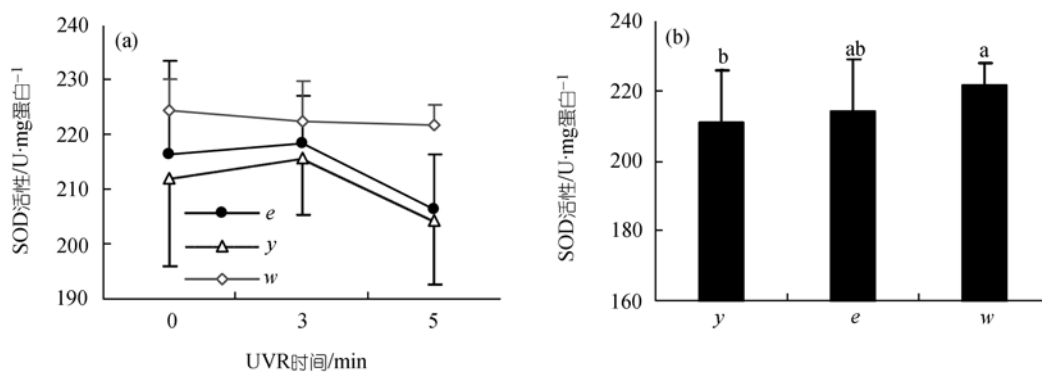


图 4 0, 3 和 5 min UVR 对果蝇体内 SOD 活性的影响

(a) 图中每一个数据点代表 10 个重复样本的平均值, 每一样本由 20 只果蝇组成, 雌雄各半. 为了清楚, w 和 e 只给出了正标准差, y 给出了负标准差. 从图中我们可以看出果蝇体内 SOD 活性不随 UVR 时间的变化而变化 ($F_{(2,87)} = 2.99$, $P = 0.0552$). (b) 图中每条柱线代表合并 3 个处理组的 30 个重复样本的平均值. 多重比较的结果标于柱线上, 相同字母代表差异不显著, 不同字母代表差异显著. w 体内 SOD 活性最高, 且与 y 差异显著 ($P < 0.05$). e 体内 SOD 水平高于 y, 但差异不显著 ($P > 0.05$, LSR)

2.5 UVR 对果蝇体内 MDA 含量的影响

MDA 作为评价果蝇遭受氧化损伤程度的指标^[11], 三品系果蝇测定结果如图 5 所示. 在进行类似 SOD 实验的统计分析后, 我们发现 UVR 对果蝇体内 MDA 含

量有显著影响 ($F_{(2,87)} = 5.62$, $P = 0.0051$), MDA 含量随 UVR 时间的延长而增加. w 在 0, 3 和 5 min UVR 组的平均 MDA 含量为 0.564, 0.823 和 0.886 nmol/mg 蛋白, e 为 0.513, 0.741 和 0.914 nmol/mg 蛋白, y 为 0.684,

0.768 和 1.098 nmol/mg 蛋白. 各组内品系间平均MDA含量多重比较的结果均为不显著($P > 0.05$, LSR法).

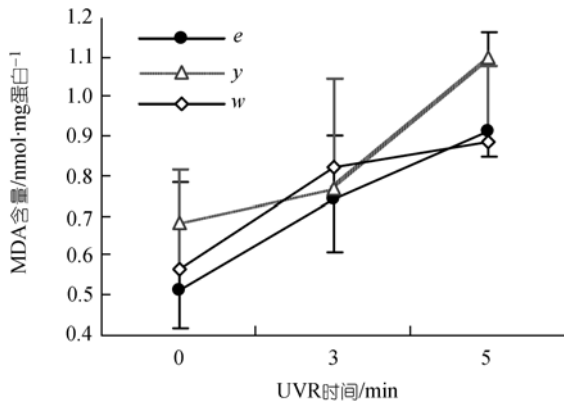


图5 UVR对果蝇体内MDA含量的影响

图中每一数据点代表10个重复样本的平均值, 每个样本由20只果蝇组成, 雌雄各半. 为了清楚, w 和 e 只给出了正标准差, y 给出了负标准差. 从图中我们可看出果蝇体内MDA含量随UVR时间的延长而增加($F_{(2,87)} = 5.62$, $P = 0.0051$). 在各处理组内品系间MDA含量差异均不显著($P > 0.05$, LSR法)

3 讨论

UVR对机体的损伤机制非常复杂, 但UVR通过诱导机体产生ROS, 进而对DNA、脂膜和其他细胞结构造成氧化损伤是一条非常重要的损伤途径^[9]. 氧化损伤是导致果蝇衰老的重要原因之一^[18]. 实验中我们发现UVR能显著降低果蝇寿命(图1, 表1). 对于这一结果, 我们认为UVR对果蝇体内组织造成的氧化损伤是一重要原因. 例如, 果蝇的中枢神经系统对自由基非常敏感, 它的不可逆损伤将导致果蝇寿命缩短^[18]. 实验中MDA和EPR测定结果很好地支持了上述推断, 我们注意到, 5 min UVR处理后果蝇体内EPR信号明显增强(图3), 这表明UVR能诱导果蝇体内 $O^{\cdot-}$ 水平增加. 此外, 果蝇体内MDA含量随UVR时间延长而显著增加(图5), 这意味着UVR时间越长果蝇遭受的氧化损伤越严重.

与张建明^[23]的研究结果类似, 本实验中也发现UVR对果蝇的繁殖力有不利影响(图2), 在2 min和3.5 min UVR处理后, 每对果蝇的子代数明显降低. 尽管UVR的穿透力很弱, UVR诱导基因突变的能力也不如X射线强, 但在本实验中EPR测定结果表明,

在近距离高强度辐射下UVR能够穿透果蝇表皮, 造成组织、生殖细胞等的氧化损伤, 进而降低果蝇繁殖力^[4,24,25]. McQuate^[4]就曾发现对雄果蝇进行UVR处理, 距离为15 cm时, 可引起果蝇精子染色体的丢失. 此外, 正常情况下雌蝇对配偶的选择是很挑剔的, 这将使它们产下更大、质量更高的卵. 但是, UVR处理后雌蝇可能对配偶不加选择, 并产下大量质量较差的卵^[24]. 当然, UVR对果蝇求爱行为的不利影响也可能造成繁殖力降低(表2). 在正常情况下, 果蝇在交尾前, 雄果蝇会发出一套求爱行为以吸引雌蝇, 一套完整的求爱行为是果蝇成功交尾的前提^[17]. 但实验中发现, 经过2和3.5 min UVR后, 果蝇的CI值降低(表2). 由于求爱行为受中枢神经系统的调控, 所以这种改变可能与中枢系统的氧化损伤有关^[18].

实验中发现UVR对果蝇体内SOD活性无显著影响($F_{(2,87)} = 2.99$, $P = 0.0552$; 图4). 而Ozkur等人^[11]在鼠皮肤上进行类似实验时发现, UVR组SOD活性明显低于对照组. 他认为这种结果是由于机体遭受氧化损伤较为严重时, SOD在清除ROS或脂质过氧化物过程中发生降解所致. 就本实验所得的结果推测, 果蝇体内SOD似乎并不容易为ROS所降解.

综上所述, UVR对果蝇寿命、繁殖力和求爱行为均有不利影响. 此外, 我们也发现3个不同体色果蝇对UVR的敏感性也存在差异. 综合各项实验结果可以看出, w 对UVR的耐受性最强; 而 e 和 y 在对照组的寿命和繁殖力无显著差异, 但UVR处理后, e 却表现出明显更高的耐受性(图1和2).

对于 w 在UVR后表现出的优势, 本研究认为一方面可能是在自然条件下 w 的寿命和繁殖力就显著高于 e 和 y (图1和2). 另一方面可能是由于其体内高水平的SOD活性(图4(b)). Sun等人^[26]曾通过转基因技术提高果蝇体内MnSOD的活性, 结果发现果蝇寿命会随着MnSOD活性的提高而延长, 效果最显著时果蝇的平均最高寿命可提高40%. SOD可将UVR诱导产生的 $O^{\cdot-}$ 转化为 H_2O_2 , 后者进而被过氧化氢酶转化为 O_2 和 H_2O , 从而降低 $O^{\cdot-}$ 对各种生物大分子的氧化损伤. 当然, 影响果蝇寿命的因素是非常复杂的. 例如, 胰岛素信号通路也影响果蝇寿命^[27,28]. 因此, 在今后的工作中应对UVR处理后果蝇体内胰岛素信号通路进行研究.

对于 *e* 和 *y* 间表现出的 UVR 敏感性差异, 本研究认为可能是它们体内沉着色素的结构和功能不同所致。

昆虫表皮由脂质、蛋白、碳水化合物和色素等物质组成^[29]。动物体内的色素根据元素组成和化学结构可分为两类, 即真黑色素和伪黑色素, *e* 和 *w* 体内沉着的主要是真黑色素, 而 *y* 体内沉着的是伪黑色素^[1]。Mosse 和 Lyakh^[30] 提出动物表皮中的黑色素在保护动物免受 UVR 损伤方面起着重要作用。因为, 在黑色素化学结构中有大量的羰基基团, 羰基中的双键可将 UVR 的能量转化为热能而散失。而在伪黑色素中这样的双键结构非常缺乏^[7,31,32]。此外, 黑色素是一种天然的“防晒剂”^[8], 它可以有效阻止 UVR 穿透表皮。但是, 伪黑色素的这种作用就逊色许多^[6,8,33]。例如, McQuate^[4] 就曾利用体色较浅的黄体突变系进行 UVR 诱变研究。

UVR 被表皮吸收时伴随有自由基的产生。根据自由基理论, 抗氧化物酶(如 SOD)在清除自由基降低机体氧化损伤方面有重要作用^[34]。实验中发现 *e* 和 *y* 体内 SOD 活性几乎处于同一水平($P > 0.05$, 图 4(b))。

但 EPR 检测结果显示, UVR 处理后 *y* 体内的 $O_2^{\cdot-}$ 信号明显比 *e* 强(图 3)。所以, 二者在 $O_2^{\cdot-}$ 信号方面的差异必定另有原因。当然, 实验中只检测了 SOD 的活性, 并不清楚两品系果蝇在其他抗氧化物酶上是否有差异。但是, 推测这种结果可能与黑色素清除自由基的特性有关。因为, 真黑色素具有清除自由基的功能^[6-9,32], 可以将 $O_2^{\cdot-}$ 转化为过氧化氢。它们因此也被喻为生物体内的伪超氧化物歧化酶(pseudo-superoxide dismutase)^[7]。与之相反, 伪黑色素在遭受辐射时易光解(photolyze), 并且产生自由基对机体造成损害^[7,8]。

总之, 根据衰老自由基学说^[35], 本实验推断 UVR 对果蝇寿命、繁殖力和求爱行为的不利影响与其诱导机体产生自由基所造成的氧化损伤有关。*w* 对 UVR 的耐受性最高, 这可能归因于它在自然环境中高的生活力及体内高水平的 SOD 活性。而 *e* 和 *y* 对 UVR 敏感性方面的差异可能是其体内色素结构和功能的差异所致, 因为真黑色素在吸收 UVR、阻止 UVR 穿透表皮及清除 UVR 诱导产生的自由基方面均优于伪黑色素。

致谢 感谢中国农业大学动物科技学院白丽华、赵春江、李新海、王勤、闫长亮、扬中强等老师同学对本实验的支持和帮助。

参考文献

- 1 Latocha M, Chodurek E, Kurkiewicz S, et al. Pyrolytic GC-MS analysis of melanin from black, gray and yellow strains of *Drosophila melanogaster*. J Anal Appl Pyrolysis, 2000, 56: 89—98 [\[DOI\]](#)
- 2 Gartner L P. Radiation-induced life span shortening in *Drosophila*. Gerontologia, 1973, 19: 295—302
- 3 Pimental E, Tavera L, Cruces M P, et al. Low radon-dose effect on fecundity and egg-to-adult viability of *Drosophila*. Radiat Meas, 2003, 36: 511—516 [\[DOI\]](#)
- 4 McQuate J T. Chromosome loss caused by ultraviolet treatment of *Drosophila* spermatozoa. Genetics, 1954, 39: 565—580
- 5 Moskaliev A A, Zainullin V G. Role apoptotic cell death in radio induced aging in *Drosophila melanogaster*. Radiats Biol Radioecol, 2001, 41: 650—652
- 6 Wittkopp P J, True J R, Carroll S B. Evolution in black and white: genetic control of pigment patterns in *Drosophila*. Trends Genet, 2003, 19: 495—504 [\[DOI\]](#)
- 7 Ortonne J P. Photoprotective properties of skin melanin. Br J Dermatol, 2002, 146: 7—10 [\[DOI\]](#)
- 8 Césari J P. Melanins and their possible roles through biological evolution. Adv Space Res, 1996, 18: 35—40 [\[DOI\]](#)
- 9 Swindells K, Rhodes L E. Influence of oral antioxidants on ultraviolet radiation-induced skin damage in humans. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2004, 20: 297—304 [\[DOI\]](#)
- 10 Snellman E, Strozky M, Segerbäck D, et al. Effect of the spectral range of a UV lamp on the production of cyclobutane pyrimidine dimers in human skin in situ. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2003, 19: 281—286 [\[DOI\]](#)
- 11 Ozkur M K, Bozkurt M S, Balabanlı B, et al. The effects of EGb 761 on lipid peroxide levels and superoxide dismutase activity in

- sunburn. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2002 18: 117—120 [\[DOI\]](#)
- 12 Hirata H, Fujii H. Free radicals in living systems: In vivo detection of bioradical with EPR spectroscopy. Curr Org Chem, 2006, 10: 521—534 [\[DOI\]](#)
- 13 Le Bourg E. Oxidative stress, aging and longevity in *Drosophila melanogaster*. FEBS letters, 2001, 498: 183—186 [\[DOI\]](#)
- 14 Arking R, Burde V, Graves K, et al. Forward and reverse selection for longevity in *Drosophila* is characterized by alteration of anti-oxidant gene expression and oxidative damage pattern. Exp Gerontol, 2000, 35: 167—185 [\[DOI\]](#)
- 15 Akeo K, Amaki S, Suzuki T, et al. Melanin granules prevent the cytotoxic effects of L-DOPA on retinal pigment epithelial cells *in vitro* by regulation of NO and superoxide radicals. Pigment Cell Res, 2000, 13: 80—88 [\[DOI\]](#)
- 16 Lee G, Hall J C, Park J H. Doublesex gene expression in the central nervous system of *Drosophila melanogaster*. J Neurogenetics, 2002, 16: 229—248 [\[DOI\]](#)
- 17 Tompkins L, McRobert S P. Regulation of behavioral and pheromonal aspects of sex determination in *Drosophila melanogaster* by the sex-lethal gene. Genetics, 1989, 123: 535—541
- 18 Bonilla E, Medina-Leendertz S, Díaz S. Extension of life span and stress resistance of *Drosophila melanogaster* by long-term supplementation with melatonin. Exp Gerontol, 2002, 37: 629—638 [\[DOI\]](#)
- 19 Wittkopp P J, Carroll S B, Kopp A. Reciprocal functions of the *Drosophila* yellow and ebony protein in the development and evolution of pigment patterns. Development, 2002, 129: 1849—1858
- 20 McRobert S P, Tompkins L. The effect of transformer, doublesex and intersex mutations on the sexual behavior of *Drosophila melanogaster*. Genetics, 1985, 111: 89—96
- 21 Gailey D A, Jackson F R, Siegel R W. Conditioning mutations in *Drosophila melanogaster* affect an experience-dependent behavioral modification in courting males. Genetics, 1984, 106: 613—623
- 22 Pan J X, Zhang S P, Tu T C, et al. EPR study on the photosensitized generation of reactive oxygen species by actinomycin D. Sci China B Chem, 2002, 45: 449—454 [\[DOI\]](#)
- 23 Zhang J M. Biological effects of ultraviolet on *Drosophila melanogaster*. Entomological Knowledge (in Chinese), 1994, 31: 242—244
- 24 Hirsch H V, Mercer J, Sambaziotis H, et al. Behavioral effects of chronic exposure to low levels of lead in *Drosophila melanogaster*. NeuroToxicology, 2003, 24: 435—442 [\[DOI\]](#)
- 25 Browning L S, Altenburg E. Studies in ultraviolet mutagenesis in *Drosophila* involving treatment of inseminated females. Genetics, 1964, 50: 695—699
- 26 Sun J T, Molitor J, Tower J. Effects of simultaneous over-expression of Cu/ZnSOD and MnSOD on *Drosophila melanogaster* life span. Mech Ageing Dev, 2004, 125: 341—349 [\[DOI\]](#)
- 27 Clancy D J, Gems D. Extension of life-span by loss of CHICO, a *Drosophila* insulin receptor substrate protein. Science, 2001, 292: 104—106 [\[DOI\]](#)
- 28 Hwangbo D S, Gersham B, Tu M P, et al. *Drosophila* dFOXO controls lifespan and regulates insulin signaling in brain and fat body. Nature, 2004, 429: 562—566 [\[DOI\]](#)
- 29 Baden H P, Kollias N, Anderson R R, et al. *Drosophila melanogaster* larvae detect low doses of UVC radiation as manifested by a writhing response. Arch Insect Biochem Physiol, 1996, 32: 187—196 [\[DOI\]](#)
- 30 Mosse I B, Lyakh I P. Influence of melanin on mutation load in *Drosophila* population after long-term irradiation. Radiat Res, 1994, 139: 357—359 [\[DOI\]](#)
- 31 Riley P A. Melanin. Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29: 1235—1239 [\[DOI\]](#)
- 32 Giacomoni P U. Open questions in photobiology III. Melanin and photoprotection. J Photochem Photobiol B, 1995, 29: 87—89 [\[DOI\]](#)
- 33 Garland C F, Garland F C, Gorham E D. Epidemiologic evidence for different roles of Ultraviolet A and B radiation in melanoma mortality rates. Ann Epidemiol, 2003, 13: 395—404 [\[DOI\]](#)
- 34 Sasaki H, Itoh T, Akamatsu H, et al. Effects of calcium concentration on the SOD activity and UVB-induced cytotoxicity in cultured human keratinocytes. Photodermatol Photoimmunol Photomed, 2005, 21: 9—14 [\[DOI\]](#)
- 35 Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. Gerontology, 11: 298—300