Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Національний антарктичний науковий центр МОН України
Українське товариство генетиків і селекціонерів імені М. І. Вавілова

VII Міжнародна конференція
«ДРОЗОФІЛА В ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ГЕНЕТИЦІ ТА БІОЛОГІЇ»

9.09.2021 – 10.09.2021

Одеса - 2021

Odesa I.I. Mechnykov National University
National Antarctic Scientific Center of Ukraine
Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine

The 7th International Conference
«DROSOPHILA IN EXPERIMENTAL GENETICS AND BIOLOGY»

9.09.2021 – 10.09.2021

Odesa - 2021

УДК 757:595.773.4(063)

Рекомендовано до друку рішенням Вченої ради біологічного факультету Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

Протокол № 10 від 23 червня 2021 р.

Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології : матеріали VII Міжнародної конференції (9-10 вересня 2021 р.). – Одеса : ОНУ, 2021. – 88 с.

У збірнику наукових праць наведені тези доповідей, представлених на матеріали VII Міжнародної конференції «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології».

Видання адресоване науковим співробітникам, викладачам, аспірантам, студентам, які спеціалізуються у генетиці та інших галузях біології.

УДК 757:595.773.4(063)

© Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, 2021
© Т. Г. Алєксєєва, макет обкладинки, 2021

Організаційний комітет конференції VII Міжнародної конференції «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології»

Іваниця Володимир Олексійович – заслужений діяч науки і техніки України, Лауреат Премії імені Д. К. Заболотного НАН України, член-кореспондент Національної академії наук України, доктор біологічних наук, професор, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Заморов Веніамін Веніамінович – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова;

Чеботар Сабіна Віталіївна – член-кореспондент Національної академії аграрних наук України, доктор біологічних наук, професор, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, голова організаційного комітету

Козерецька Ірина Анатоліївна – доктор біологічних наук, доцент, Національний антарктичний науковий центр МОН України, співголова

Члени оргкомітету

Білоконь Світлана Василівна – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова;

Алєксєєва Тетяна Григорівна – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Вайсерман Олександр Михайлович – доктор медичних наук, професор, Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України

Волкова Наталія Євгенівна - кандидат біологічних наук, доцент, Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Кошель Наталия Михайловна - кандидат біологічних наук, провідний науковий співробітник,Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України

Кшиштоф Войцеховський - старший спеціаліст із охорони природи, охорони ландшафту, історико-культурних цінностей, охорони навколишнього середовища, освіти, туризму та відпочинку управління комплексу ландшафтних парків, Люблін

Матійців Наталя Петрівна - кандидат біологічних наук, доцент, Львівський національний університет імені Івана Франка

Мурадян Хачатур Казпрович – доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, Інститут геронтології імені Д. Ф. Чеботарьова НАМН України

Серга Світлана Валеріївна - кандидат біологічних наук, доцент, Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Проценко Олександра Володимирівна - кандидат біологічних наук, доцент, Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Тарасюк Олександр Миколайович – кандидат біологічних наук, доцент, Брестський державний університет імені О. С. Пушкіна

Черник Ярослава Іванівна – кандидат біологічних наук, доцент, Львівський національний університет імені Івана Франка

Секретаріат

Мірось Світлана Леонідівна – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Січняк Олександр Львович – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Задерей Наталя Сергіївна – кандидат біологічних наук, доцент, Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Програма VII Міжнародної конференції «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології»
9.09.2021 – 10.09.2021

9.09.2021	
9:00 – 10:00 Реєстрація учасників конференції	
Урочисте відкриття конференції Ведуча – д.б.н. Козерецька І. А.	
10:00-10:45 27 аудиторія, біологічний факультет ОНУ	Привітання учасників від адміністрації Університету (проректор з наукової роботи, проф., д.б.н. Іваниця В. О.) Привітання учасників від адміністрації біологічного факультету (декан, доц., к.б.н. Заморов В. В.) та кафедри генетики і молекулярної біології (проф., д.б.н. Чеботар С. В.)
10:45– 11:25	Переваги співпраці в науці: Україна та зарубіжжя Доповідач І. А. Козерецька
Кава-брейк (30 хвилин)	
12:00 – 12:30	The Outlook Of Molecular Methods: Implication For Drosophila Research Доповідач Є. В. Городецька
12:30 – 13:00	Validation Of Gwas-Derived Candidate Genes Associated With Low Bone Mineral Density Using Zebrafish (Danio Rerio) Model Доповідач І. О. Христофорова
13:00 – 13:30	Genomics of symbiosis Доповідач О. М. Майстренко
13:30 – 14:00	Участь України в міжнародному соціальному науковому проекті Melanogaster: catch the fly! (#melanogasterctf) Доповідач Д. Б. Радіонов

Обід – 60 хвилин	
ІІ засідання конференції Ведуча – д.б.н. С. В. Чеботарь	
15:00 – 15:25 27 аудиторія, біологічний факультет ОНУ	Оценка генетической активности стероидных соединений растительной природы на дрозофиле Доповідач А. Н.Тарасюк
15:25 – 15:50	*Wolbachia* в популяції *Drosophila simulans* Одеси Доповідач С. В. Серга
15:50 – 16:15	Genotype dependent effects of dietary beta-alanine on mating behavior indexes of *Drosophila melanogaster* Доповідач Н. Є. Волкова
16:15 – 16:40	Вплив спермідину на прояви нейродегенерацій у мутантів *Drosophila melanogaster* за генами sod^1 та sws^1 Доповідач З. М. Новосядла
Кава-брейк (20 хвилин)	
17:00 – 19:00	Екскурсія у Ботсад – постерна сесія
10.09.2021	
ІІІ засідання конференції Ведучий - к.б.н. А. Н. Тарасюк	
9:00 – 9:25 27 аудиторія, біологічний факультет ОНУ	Вплив генетичного і фармакологічного пригнічення триптофан-кінуренінового шляху на локомоторну активність імаго *Drosophila melanogaster* Доповідач В. В. Навроцька
9:25 – 9:50	Нестероидные противовоспалительные препараты модифицируют проявление адаптивно значимых признаков у дрозофилы Доповідач О. В. Горенська
9:50 – 10:15	Показники пристосованості комах і генотоксичний ефект монотерпенів у біотестуванні на *Drosophila melanogaster*

	Доповідач Білоконь С.В.
10:15 – 10:40	Структурно-функціональні особливості клітин слинних залоз *Drosophila melanogaster* під впливом монотерпенів Доповідач Т. Г. Алєксєєва
Кава-брейк (30 хвилин)	
11:10 – 11:35	Drosophilidae України та Польщі (збори 2019 року) Доповідач П. А. Коваленко
11:35 – 12:00	Чутливість до трикрезилфосфату особин *Drosophila melanogaster* за керованої надекспресії послідовностей окремих доменів білка SWS Доповідач М.-М. Р. Ткачук
12:00 – 12:25	Можливі шляхи походження *Drosophila simulans* України Доповідач Н. О. Грубіян
12:25 – 12:50	Роль генов белков теплового шока в контроле приспособленности у дрозофилы Доповідач М. В. Пасякова
Обід – 60 хвилин	
III засідання конференції Ведуча - к.б.н. Алєксєєва Т. Г.	
14:00 – 14:25 27 аудиторія, біологічний факультет ОНУ	С60 розкриває свої таємниці Доповідачі О. В. Проценко, І. А. Козерецька
14:25 – 14:50	Не дрозофілою єдиною*: Belgica antarctica* – модельний організм для вивчення механізмів пристосування до глобальних змін клімату Доповідач П. А. Коваленко

15:15 – 15:50	Клінальність частот варіантів генів репарації ДНК у популяціях *Drosophila melanogaster* Європи Доповідач І. С. Терпило
15:50 – 16:15	Вплив pH їжі на личинковій стадії на тривалість життя імаго дрозофіл Доповідач Кошель Н. М
16:15 – 17:00	Закриття конференції – ведуча д.б.н. І. А. Козерецька. Нагородження молодого ученого за кращу доповідь. Визначення доповідей, матеріали яких будуть рекомендовані до друку у Віснику Одеського національного університету імені І. І. Мечникова. Серія Біологія. Обговорення та підписання резолюції конференції.
18:00	Товариська вечеря

СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНІ ОСОБЛИВОСТІ КЛІТИН СЛИННИХ ЗАЛОЗ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ПІД ВПЛИВОМ МОНОТЕРПЕНІВ

Т. Г. Алєкссєва[1], С. В. Білоконь[1], М. В. Нестеркіна[2], І. А. Кравченко[2], Т. О. Черкасова[1]

[1] - Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна

[2] - Державний університет «Одеська політехніка», Одеса, Україна

t.alieksieieva@onu.edu.ua; s.v.belokon@onu.edu.ua

Вступ

Стурбованість станом навколишнього середовища обмежує використання традиційних пестицидів та інших речовин, призначених для контролю за шкідниками. Пошук більш безпечних для людини та середовища і, водночас, ефективних сполук привернув увагу до монотерпеноїдів та їх похідних. Для речовин монотерпенової природи показано цілий спектр ефектів, серед яких є антимікробні, антиоксидантні, протизапальні, інсектицидні та репелентні властивості (Acamovic et al., 2005; Christaki et al., 2012; Zeng et al, 2015; Islam, 2017; Jioti et al., 2019 та ін.). Незважаючи на численні роботи і висунуті гіпотези, механізм дії монотерпенів у якості природних інсектицидів та їх вплив на фізіологію, онтогенез комах та функціонування генетичного апарату їх клітин ще не є остаточно визначеним, що і зумовлює інтерес до проведення досліджень на такому модельному об’єкті як *D. melanogaster.*

Метою даного дослідження було визначення структури та функціонування політенних хромосом клітин слинних залоз *D. melanogaster* під впливом речовин монотерпенової природи.

Об’єкти та методи дослідження

Як об’єкти дослідження використовували моноциклічні терпеноїди, що містять у своїй структурі функціональні групи різної природи: гідроксигрупу (карвакрол та тимол) та карбонільну групу (карвон). Згідно з даними літератури, вказані речовини мають доведені антимікробні та знеболювальні властивості (Park et al., 2008; De Sousa et al., 2011). Окрім того, встановлено вплив положення гідроксильної групи на прояв антибактеріальної активності ізомерних терпеноїдів карвакролу та тимолу (Kachur et al., 2020).

Для досліджень була обрана лінія мух дикого типу *C-S*, яка широко використовується для з’ясування біологічної активності, мутагенності та токсичності різних речовин (Wurgler et al, 1986; Chyb, Gompel, 2013).

Личинки від трьох батьківських пар розвивалися на стандартному цукрово-дріжджовому живильному середовищі (10 мл) за температури 24,0±0,5°С у стаканчиках об'ємом 60 мл. Монотерпени додавали до поживного середовища до кінцевої концентрації у 0,02%. Враховуючи погану розчинність досліджуваних монотерпенів у воді, для утворення істинного розчину вказаних сполук використовували як розчинник 1,2-пропіленгліколь; у якості негативного контролю використовували чисте живильне середовище, у якості позитивного – середовище з додаванням відповідної кількості 1,2-пропіленгліколю.

При проведенні цитогенетичних досліджень визначали середню кількість клітин у слинних залозах личинок дрозофіли третього віку, а також ступінь політенії хромосом у цих клітинах. Оцінку сили впливу досліджуваного фактора – речовин монотерпенової природи здійснювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу. Визначали відсоткове співвідношення ядер з різним ступенем політенії, а також середні показники ступеня для кожного дослідного і контрольного варіанту (Страшнюк та ін., 2019). Отримані дані про ступінь політенії хромосом у контролі та за додавання досліджуваних речовин зводили у ряди розподілів ознак. Вірогідність відмінностей рядів розподілів порівнювали за допомогою критерію Пірсона (Атраментова, Утевська 2008). При визначенні середнього показника політенії для доведення статистично вірогідних відмінностей використовували критерій Крамера-Уелча (Орлов, 2004). Відсоток асинапсису для хромосом з порушенням кон'югації розраховували по відношенню кількості хросомом з порушенням кон'югації до кількості досліджених ядер на препарат (Тагліна, 2006). Експерименти проводили у трьох серіях, для кожного варіанту досліду і контролю кожної серії досліджували слинні залози не менш ніж 10 личинок жіночої статі.

Результати та обговорення

Морфологічні характеристики слинних залоз личинок дослідних і контрольних варіантів виявилися досить варіативними, показано наявність як міжваріантної, так і внутрішньоваріантної мінливості. Оцінку стану слинної залози проводили за середньою кількістю клітин на залозу, який визначали, підраховуючи кількість ядер на давлених ацетоорсеїнових препаратах. Найвищу кількість клітин у залозі виявили у личинок

контрольного варіанту (124,45), а найменшу – 92,09 – у личинок, вирощених на середовищі з доданням 1,2-пропіленгліколю (різниця між середніми значеннями для варіантів складала 32,35 при $НІР_{05}$ = 18,44). З даних літератури відомо про малотоксичність 1,2-пропіленгліколю (Дымент и др., 1978), який широко використовується у фармацевтичній промисловості у якості допоміжної речовини; тим не менш, у наших дослідах виявлений значний негативний вплив цього реагенту на інтенсивність поділу клітин, і, відповідно, на їх загальну кількість у слинній залозі. Серед дослідних варіантів лише вирощені на середовищі з додаванням карвону личинки мали вірогідно меншу середню кількість клітин на залозу (104,64) у порівнянні з контрольним варіантом. Додавання карвакролу (113,77) і тимолу (116,29) у середовище не позначилося суттєво на розвитку досліджуваних органів личинок дрозофіли, кількість клітин у залозі у цих варіантах наближалася до контролю і мала вірогідні відмінності від показника личинок, вирощених на середовищі з чистим розчинником – 1,2-пропіленгліколь. Таким чином, можна резюмувати, що вплив, який здійснювали тимол та карвакрол на мітотичну активність клітин слинних залоз личинок дрозофіли, певним чином нівелював негативну дію 1,2-пропіленгліколю.

З метою загальної оцінки функціонування генетичного апарату клітин слинних залоз було досліджено ступінь політенізації їх хромосом. Побудова рядів розподілів клітин з ядрами різної ступені політенізації також виявила негативний вплив 1,2-пропіленгліколю: наявність цього розчинника в поживному середовищі призвела до більш ранньої зупинки циклів ендоредуплікації у окремих клітинах слинних залоз. Так, у середовищі з поліпропіленгліколем більш ніж 20 відсотків клітин (у контролі – лише 8 %) зупинялося на сьомому циклі політенізації і не переходило на наступні, вищі рівні. Таке уповільнення спостерігалося і на кожному наступному етапі, результуючись у найменшому відсотку клітин з максимальним ступенем політенізації (2048С) – приблизно 3% у порівнянні з контрольними 17%. Як і у випадку з кількістю клітин у слинних залозах, досліджувані речовини монотерпенової природи виявляли неоднозначний вплив на інтенсивність проходження циклів редуплікації хромосом. Так, у порівнянні з 1,2-пропіленгліколем, усі три монотерпени вірогідно зменшували кількість клітин з ядрами, що

зупинилися на сьомому циклі ендоредуплікації, наближаючись до показників контролю. Взагалі, криві розподілу клітин на класи у дослідних варіантах з карвакролом і карвоном були дуже подібні до такої у контролі, у той час як для варіанту з тимолом зафіксовані вірогідні відмінності як від контролю, так і від варіанту з чистим розчинником – 1,2-пропіленгліколем. Характер кривої розподілу ядер по класам з різним ступенем політенії під впливом карвакролу мав тенденцію до збільшення питомої ваги останнього класу (26 % порівняно з 17% для контролю і 3% для 1,2-поліпропіленгліколю). Подібне збільшення кількості клітин, які пройшли десять циклів ендоредуплікації під впливом карвакролу було встановлено нами раніше (Nesterkina et al., 2018). Як сам карвакрол, так і його етери впливали на активність генетичного апарату клітин слинних залоз, виявляючи різноплановий ефект (Nesterkina et al., 2020), який залежав від взаємозв'язку структура-активність.

Лише для хромосом найбільшого класу (2048C) у клітинах личинок мух, вирощених на поживному середовищі з додаванням карвакролу, було помічено явище спонтанного асинапсису. Випадки асинапсису відбувались стохастичним чином (не було встановлено закономірності розшарування стосовно певних ділянок політенних хромосом, як це було показано у роботах (Taglina, 2006; Strashnyuk et al., 2009), проведених на спеціально відселектованих лініях). Асинапсис у хромосомах вищого ступеню політенізації складав лише 2,43% від загальної кількості проаналізованих клітин усіх стадій політенії та 9,28% від кількості клітин у класі з вищим ступенем політенізації. Для політенних хросомом личинок мух використаної нами лінії C-S характерний повний соматичний синапсис гомологів, зокрема, подібних розходжень у наших дослідах раніше виявлено не було. Не помічено асинаптичних розшарувань хромосом у інших варіантах досліду і у контролі під час трьох серій експерименту.

Визначення показника середнього ступеню політенії хромосом (СПХ), який дозволяє оцінити дозу генів у ядрах клітин такого типу тканин, для усіх досліджених варіантів, показало пригнічення політенізації при внесенні у поживне середовище, яким живляться личинки, чистого розчинника 1,2-пропіленгліколю. СПХ клітин таких личинок був найменшим (776,94±74,58) у той час як показники усіх інших варіантів наближалися або перевищували 1000. Порівняння СПХ клітин у контрольному та варіантах з монотерпенами

продемонструвало близькість значень для контролю (1051,55±41,21), тимолу (993,87±52,01) та карвону (1008,11±54,26), у той час як СПХ клітин личинок, вирощених на середовищі з додаванням карвакролу (1178,97±43,35), вірогідно перевищували відповідні значення цього показника решти варіантів.

Таким чином, встановлено, що досліджувані речовини чинять пролонговану дію, впливаючи на функціонування клітин слинних залоз дрозофіли як на ембріональному (мітотична активність), так і на постембріональному етапі (проходження клітинами циклів ендоредуплікації хромосом). Біологічні ефекти досліджуваних монотерпенів детерміновані їх хімічною структурою. Показано, що внесення 1,2-пропіленгліколю у середовище мало власний негативний вплив на досліджувані показники, тому використання його у якості розчинника у подібних дослідах є проблематичним.

The investigated monoterpenes (carvone, thymol and carvacrol) have a prolonged effect influencing the functioning of the cells of the salivary glands of *Drosophil*a both at the embryonic (mitotic activity) and at the postembryonic stage (passage of the endoreduplication cycles of chromosomes by the cells). The biological effects of the monoterpenes under study are determined by their chemical structure. It was demonstrated that the addition of 1,2-propylene glycol to the cultural medium had its own negative effect on the studied parameters; therefore, its use as a solvent in such experiments requires further research.

ПОКАЗНИКИ ПРИСТОСОВАНОСТІ КОМАХ І ГЕНОТОКСИЧНИЙ ЕФЕКТ МОНОТЕРПЕНІВ У БІОТЕСТУВАННІ НА *DROSOPHILA MELANOGASTER*

С. В. Білоконь[1], Т. Г. Алєксєєва[1], М. В. Нестеркіна[2], І. А. Кравченко[2]

[1] - Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна

[2] - Державний університет «Одеська політехника», Одеса, Україна

s.v.belokon@onu.edu.ua, t.alieksieieva@onu.edu.ua

Вступ

В останні роки актуальним є розробка нових джерел безпечних та екологічно чистих рослинних препаратів з інсектицидною та акарицидною дією. Перспективними у цьому напрямку є дослідження терпеноїдів, що

входять до складу ефірних олій рослин з доведеною низькою токсичністю для ссавців, повністю біорозкладаних, багатофункціональних та екологічно безпечних. Властивості численних ефірних масел і деяких монотерпенів, що входять до їх складу, були широко вивчені стосовно різних видів комах (Abdelgaleil et al., 2009; Bougherra et al., 2015; Norris et al., 2018; Gaire et al, 2019). Проте, механізми дії монотерпенів все ще є недостатньо вивченими, і питання впливу на показники пристосованості і генетичний апарат комах залишається дискусійним.

Метою роботи була оцінка можливого впливу карвакролу, тимолу, карвону на фізіологічні показники плодової мушки та спричинення генотоксичної дії в тестах на *Drosophila melanogaster*.

Об'єкти та методи дослідження

Карвакрол та тимол відносяться до класу фенолів з доведеною антимікробною, антиоксидантною, імуностимулюючою, знеболювальною, спазмолітичною дією (Крюков, Глебова, 2017; Park et al., 2008; Samir et al, 2009).

Карвон відноситься до класу кетонів і йому властива антивірусна, муколітична, нейротоксична, знеболювальна, регенеративна, тонізуюча, заспокійлива дії (Gali-Muhtaasib et al., 2000; De Sousa et al., 2011).

В якості розчинника для монотерпенів використовували 1-2 пропіленгліколь, який є малотоксичним і використовується у фармації як допоміжна речовина (Жогло та ін., 1996).

Для встановлення впливу монотерпенів на показники пристосованості дрозофіли використовували лінію дикого типу *C-S* (*Canton-S*) та генетично нестабільну лінію Bar для дослідження частоти нерівного кросинговеру. Вибір лінії Bar як тестерної обумовлений явищем нереципрокної гомологічної рекомбінації (Страшнюк, та ін., 2014).

Мух вирощували на стандартному цукрово-дріжджовому живильному середовищі за температури 24,0±0,5°С. Культури дрозофіли розвивалися в стаканчиках об'ємом 60 мл у кількості 3 ♀ і 3 ♂. Кількість живильного середовища в кожному стаканчику становила 10 мл.

У досліді додавали до кормової суміші монотерпени і 1,2-пропіленгліколь в концентраціях 0,02%.

Плодючість визначали за чисельністю лялечок та імаго від однієї пари, що знаходились у пробірці (20 мл) протягом трьох діб. Кількість живильного середовища в кожному стаканчику становила 2,5 мл.

Для встановлення тривалості життя мух поміщали в скляні пробірки з кормом по 10 особин (окремо самців та самиць) і однократно додавали монотерпени і 1-2 пропіленгліколь у живильне середовище у концентрації 0,02%. Через кожні три доби мух пересаджували на свіже середовище і визначали кількість днів, які прожили 50 % особин кожної статі (Lt50).

Вивчали домінантні летальні мутації як на ембріональній стадії (яйця), так і на постембріональній стадії розвитку дрозофіли (лялечкова загибель).

Частоту домінантних летальних мутацій (ДЛМ) визначали за стандартною методикою як відсоток нерозвинутих яєць від загальної кількості запліднених яєць (Тихомирова, 1990; Дика та ін., 2016).

Вивчення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки Bar як тест на генотоксичність досліджуваних препаратів проводили після дії на самок, у наступному поколінні. Частоту мутацій за локусом *Bar* визначали за відношенням кількості мутантних подій +/Y, B/+, BB/Y, BB/B до загальної кількості проаналізованих особин лінії *Bar* (Страшнюк та ін., 2014).

Тривалість передімагінального розвитку вираховували в годинах від моменту початку яйцекладіння до виходу імаго.

Статистичну обробку матеріалу проводили з використанням стандартних (Excel) спеціалізованих програм (Statistica) за методами, прийнятими в біології (Атраментова, Утевская, 2008).

Результати та обговорення

Результати проведеного дослідження свідчать про негативний вплив монотерпенів і 1,2-пропіленгліколю на життєздатність мух лінії *C-S* за всіма показниками, що розглядалися:

Середня тривалість життя мух за додавання до кормової суміші монотерпенів скоротилася майже вдвічі при додаванні карвакролу і 1,2-пропіленгліколю, карвон зменшив тривалість життя мух на 37%, найменший негативний вплив здійснив тимол (на 17,4%).

Плодючість за кількістю лялечок була вірогідно нижчою за контроль у всіх варіантах досліду, крім варіанту з додаванням тимолу, а за кількістю імаго – у всіх варіантах досліду.

Розрахунок постембріональної загибелі показав, що у всіх варіантах досліду відбувалася загибель на стадії лялечки у 2 рази і більше частіше, ніж у контролі; найвищий рівень втрат спостерігали у варіантах досліду з карвакролом і тимолом.

Тривалість передімагінального розвитку прискорювалася у варіантах досліду з карвоном і тимолом, і сповільнювалася у варіанті досліду з додаванням 1,2-пропіленгліколю, за дії карвакролу – не відрізнялася від контролю.

Рівень ДЛМ відмічено найвищий у варіанті з карвакролом (26,8%), причому серед яєць були всі варіанти – від незапліднених (таких було найбільше) до забарвлених (загибель у терміні після 9 годин розвитку). У варіантах за додавання тимолу, карвону та 1,2-пропіленгліколю ДЛМ складали 14, 13 та 19% відповідно.

Генотоксична дія досліджуваних препаратів призводила до порушення взаємодії гомологічних хромосом під час мейозу, внаслідок чого збільшувалася частота нереципрокної гомологічної рекомбінації у локусі *Bar*, результатом чого стало збільшення частоти мутацій ознаки Bar, найбільше у варіантах з додаванням карвакролу та 1,2-пропіленгліколю (18 та 12 % відповідно), хоча за додавання тимолу і карвону теж було виявлено нащадків з очима, які відрізнялися від фенотипу смужкоподібного ока у кількості 8 і 6 %. У контролі не було виявлено нащадків виключного потомства (з фенотипом не Bar).

Підводячи підсумки, можна констатувати, що як препарати монотерпенів, так і 1,2-пропіленгліколь спричиняють негативний вплив на дрозофілу, що проявляється як у зменшенні показників пристосованості, так і у значному генотоксичному впливі, який засвідчено тестами на індукцію ДЛМ і за вивчення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar*. Найбільш негативний вплив відмічено для карвакролу, що узгоджується з попередньо отриманими даними (Nesterkina et al., 2020) та даними літератури (Park et al., 2008; Moretti et al., 2013).

The effect of monoterpenes carvacrol, thymol, carvone, and 1,2 propylene glycol on the viability of *Canton-S* flies and the ability to exert genotoxic effects in DLM tests, the frequency of unequal crossing over for the Bar mutation were investigated. The negative effect of all studied drugs has been established.

GENOTYPE DEPENDENT EFFECTS OF DIETARY β-ALANINE ON MATING BEHAVIOR INDEXES OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

N. Chernobai, N. Volkova
V. N. Karazin Kharkiv National University, Kharkiv, Ukraine
natalia.volkova@karazin.ua

Introduction

Behavior is the individual's ability to change its activity (locomotion usually) under the influence of internal and external factors. Mating behavior is a set of physiological reactions that are realized in species-specific motor acts that lead to copulation. The effectiveness of these behavioral acts affects the individual's chance for reproduction, and, hence, the number of offspring. It is known that most traits of mating behavior are polygenic. At the same time, a number of single genes have been identified that pleiotropically affect these traits.

The amino acid beta-alanine is known to be an intermediate metabolite in the synthesis of dopamine and melanin both in insects and mammals (Jacobs, 1980), and is therefore likely to affect not only body pigmentation, but also the nervous system functionality and motor functions. This study is aimed to examine the complex effects of mutations in *black* and *ebony* loci, and beta-alanine at concentrations of 0,6 mM/l and 12 mM/l on mating behavior of *Drosophila melanogaster*.

Materials and Methods of the Research

We used *Drosophila melanogaster* stocks from *Drosophila* stocks collection of Genetics and Cytology Department of V.N. Karazin Kharkiv National University. This collection is an item of National Heritage of Ukraine (Order…, 2013).

Wild-type stocks used: *Canton-Special*: *C-S* (http://flybase.org/reports/FBsn0000274.html), *Oregon-R*: *Or* (http://flybase.org/reports/FBsn0000276.html). Stocks carrying single-gene mutations, disturbing body pigmentation: *black*: *b*

(http://flybase.org/reports/FBgn0000153), *ebony*: *e* (http://flybase.org/reports/FBgn0000527). To study the effect of the loci on the components of mating behavior, saturation crosses were conducted under the directed selection for marker mutant phenotype according to (Nikoro, Vasilyeva, 1978). For each initial mutant stock, 7 complete saturation crosses were performed either with *C-S* stock or with *Or* stock. Thus, the stocks were aligned (uniformed) with genetic background (hereinafter: $M_{C\text{-}S}$ – the stock in which the mutation (*M*) was transferred into *C-S* wild-type genetic background; M_{Or} – the stock in which the mutation was transferred into *Or* wild-type genetic background). Finally, we obtained two sets of congenic strains. The mating activity of males (MAM) and the mating receptivity of females (MRF) were evaluated as the proportion of males or females respectively that copulated within 1 hour (for details see Volkova, Chernobay, Filiponenko, 2020). The duration of copulation was measured for each couple from the beginning of the act of copulation to its completion (Basso da Silva, Valente, 2000; Byrne, Rice, 2006). The copulation delay was defined as the time from the moment the individuals were placed in the tester chamber until the pair entered the copulation (Mackay, Heinsohn, Lyman, et al., 2005). The observation time was 60 minutes. The beginning of the act of copulation was recorded visually. Time was measured using a stopwatch. All couples who entered copulation were taken into account. If no pair entered the copulation, the duration of copulation was taken as "0", and the delay of copulation - as "60 minutes".

Stocks and hybrids were reared in culture vials (height 10 cm, diameter 2.0 cm; volume of nutrient medium in each vial – 3 ml). Controls developed in standard sugar-yeast medium, experimental groups were reared in sugar-yeast medium fortified with beta-alanine in concentrations 6 mM/l and 12 mM/l. All flies were kept in thermostat at 23±1°C. During the first day after eclosion females and males were segregated. Both were kept separately in vials with temporary medium until sexual maturation (till the age of 3–5 days). Only virgin individuals were used for behavioral tests. All behavioral tests were performed without prior insects anesthetizing, under the conditions of constant uniform illumination and temperature (20–25°C).

The effect of the locus on mating behavior was assessed by comparing the values of the corresponding indexes either in the wild-type basestock and in congenic strains or between individuals of same genotype but reared in different culture medium. The confidence limits for the proportions were calculated for

proportions. Comparison of groups was performed by analysis of variance for qualitative (for proportions) or quantitative (for time) traits. Associations were determined using multivariate and 2×2 contingency tables, χ^2 criteria, exact two-sided Fisher criteria, as well as the criteria of evaluation of strength of linkage between the risk factor (specific mutation) and phenotype analyzed. The linkage between indexes studied was analyzed with Spearman rank correlation coefficient (r_S) (Atramentova, Utevska, 2006; De Muth, 2006; Plokhinsky, 1970). To perform calculations we used on-line calculators (https://medstatistic.ru/calculators/calchi.html; https://epitools.ausvet.com.au/ciproportion, https://statpages.info/ctab2x2.html).

Results and Discussion

According to the results of the study, the addition of beta-alanine to the nutrient medium had almost no effect on the mating activity of males. The exception are the males from stocks with *ebony* mutation, which under the conditions of development in the medium with beta-alanine (regardless of concentration) showed reduced mating activity compared to the corresponding basestock. Therefore, this gene is promising for a more detailed study of the effects of beta-alanine and mutations on the behavioral characteristics of *Drosophila*.

Mating receptivity of females depends on the combined effect of factors of mutation presence and genetic background of the strain (F = 17,7; p <0,01). The $e_{C\text{-}S}$ and $b_{C\text{-}S}$ strains show a tendency to reduce the mating receptivity of females with the addition of beta-alanine.

It should be noted that the relatively high mating activity of males and mating receptivity of females of the wild-type *C-S* stock and mutant strains derived is quite clearly manifested in the temporal characteristics of mating. In particular, they are all characterized by a short copulation delay in the absence of beta-alanine. And in this case, it does not matter whether males compete for females, or vice versa.

Regarding the presence of beta-alanine in the nutrient medium, we have a significant increase in copulation delay in the $e_{C\text{-}S}$ strain in conditions of competition between females for males.

In the wild type *Or* stock and its mutant derivatives, we have a slightly different picture. First, in the absence of beta-alanine supplement, copulation delay depends on the conditions of competition: in the case of competition between males for females, individuals mate later, compared to when females compete for males. Only in the case of *ebony* mutation presence in the genotype tendencies change to the

opposite. The addition of beta-alanine food supplement does not affect this index in the stock without mutations and in congenic strain with *black* mutation, but has a significant effect on the congenic strain with *ebony* mutation: copulation delay, regardless of competition conditions, increases significantly. According to the results of statistical analysis, this indicator is most influenced by the factor of the presence of mutations in the genotype (F = 69,7; p <0,01).

The duration of copulation to some extent depends on all factors controlled in this experiment (F = 7,4; p <0,01). Variability of this indicator by 16,7 % is determined by the presence of mutation *ebony* or *black* in the genotype of the individual (F = 69,6; p <0,001). The interaction of two factors (the presence of mutations and development in beta-alanine supplied medium) determines the variability of this indicator by 4%.

In addition, in the $e_{C\text{-}S}$ strain, under the conditions of competition between females, and in the strain e_{Or}, under the conditions of competition between males, there is a significant reduction in the duration of copulation at the presence of beta-alanine in the nutrient medium during larval period.

Thus, dietary beta-alanine at concentrations of 0,6 mM/l and 12 mM/l can be used as modifying factor for reproduction effectiveness of *ebony* mutant stocks of *Drosophila melanogaster*.

НЕСТЕРОИДНЫЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ МОДИФИЦИРУЮТ ПРОЯВЛЕНИЕ АДАПТИВНО ЗНАЧИМЫХ ПРИЗНАКОВ У ДРОЗОФИЛЫ

О. В. Горенская, А. А. Титова

Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, 61022, Харьков, Украина
olgavg2014@gmail.com

Вступление

В настоящее время ведется поиск фармакологических препаратов, способных увеличивать длительность жизни у модельных организмов. Препараты должны обладать как противовозрастным (anti-aging) эффектом, т.е. способностью замедлить возрастные процессы, так и геропротекторным, направленным на предотвращение преждевременного старения и/или замедляющим и отсрочивающим старение (Anisimov, 2012). В первую очередь это связано со способностью организмов

адаптироваться к стрессовым воздействиям, поскольку старый организм отличается от молодого пониженной способностью адаптироваться к изменениям внешней среды (Фролькис, 1988). Согласно базе данных Geroprotectors, известно более 200 фармакологических препаратов, способных продлевать жизнь модельным организмам (Moskalev et al., 2015). В частности, противовозрастным эффектом обладают нестероидные противовоспалительные препараты (НСПВП). Это связано с тем, что большинство возрастных патологий и процессов старения связаны с хроническим воспалением (Franceschi, Campisi, 2014). Следовательно, ингибирование этого процесса с помощью противовоспалительных препаратов может быть эффективным геропротекторным методом (Danilov et al., 2015).

В экспериментах на *Drosophila melanogaster* показано геропротекторное действие ибупрофена, эффект которого зависит от дозы действующего вещества: самки, которые его употребляли в среднем возрасте (30–40 дней), имели большую продолжительность жизни по сравнению с контролем (Proshkina et al., 2016). Однако потребление взрослыми имаго *D. melanogaster* НСПВП в низких концентрациях приводило к увеличению показателя длительности жизни при резком снижении плодовитости и локомоторной активности (Proshkina et al., 2016).

Эффект увеличения продолжительности жизни часто бывает связан со снижением плодовитости. Согласно теории Кирквуда, у каждого организма есть оптимум соотношения ресурсов, которое он тратит или на размножение, или в поддержку сомы (тела). Повышение жизнеспособности, согласно этой теории, возможно благодаря появлению адаптаций, которые выводят организм из-под давления агрессивных факторов среды обитания и дают возможность освободить ресурсы для самообслуживания в ущерб высокой плодовитости.

Механизмы действия нестероидных противовоспалительных препаратов у насекомых изучены недостаточно. Предполагается, что они аналогичны таковым у млекопитающих и основаны на ингибировании циклооксигеназы-2, что приводит к снижению синтеза простагландинов. НСПВП обладают и антиоксидантной активностью, но роль простагландинов во многих сигнальных каскадах еще не изучена.

Неизученным остается и вопрос о влиянии НСПВП на адаптивно важные признаки имаго при потреблении препарата личинками. Не выяснен вопрос зависимости полученных эффектов от концентрации вещества и возраста родителей.

Таким образом, целью данной работы был анализ стрессоустойчивости (голодание, гипертермия) и плодовитости дрозофилы при действии нестероидного противовоспалительного препарата на разных этапах онтогенеза.

Объекты и методы исследования

В работе использовалась линия дикого типа *Canton-Special D. melanogaster* из коллекции кафедры генетики и цитологии Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. В экспериментах использовали нестероидный противовоспалительный препарат «Нимид», действующим веществом которого является нимесулид, в концентрациях 0,2, 0,1, 0,05, и 0,025 мг/мл. Оценивали действие препарата на разных этапах онтогенеза дрозофилы – на стадии личинки и на стадии имаго. В первом случае личинки развивались на стандартной среде и на среде, содержащей нимесулид. Во втором варианте эксперимента нимесулид потребляли виргинные имаго на протяжении первых суток жизни.

Стрессоустойчивость имаго оценивали по устойчивости к голоданию и длительности жизни после гипертермии. Во втором случае суточных имаго выдерживали в термостате при $t = 35^0C$ в течении 48 часов. Анализировали среднюю продолжительность жизни, для этого строили кривые выживания особей. При сравнении функций дожития использовали логранговый критерий.

Плодовитость определялась по количеству потомков на стадии имаго от родителей в возрасте 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18, 20 и 22 суток. Параллельно учитывалось количество особей, погибших на стадии куколки. При сравнении полученных значений использовали точный критерий Фишера.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что развитие личинок в среде, содержащей нимесулид, приводит к снижению устойчивости к стрессовому фактору – голоданию в среднем на 19,2 % у самок и на 7,4 % у самцов.

Снижается устойчивость к голоданию наиболее стрессоустойчивых самок при развитии личинок в среде, содержащей нимесулид в концентрациях 0,1 и 0,05 мг/мл. Потребление имаго дрозофилы нимесулида приводит к повышению стрессоустойчивости и увеличению продолжительности жизни при голодании на 12,4 % у самок в концентрации действующего вещества 0,025 мг/мл и у самцов во всех вариантах эксперимента в среднем на 17,8 %. Возрастает длительность жизни при голодании наиболее стрессоустойчивых самок при потреблении нимесулида в концентрации 0,025 мг/мл и самцов во всех вариантах эксперимента.

Показано стрессопротекторное действие нимесулида у самцов имаго дикого типа линии *Canton-S* к гипертермии на протяжении 48 часов. Установлено, что употребление имаго НСПВП приводит к увеличению средней продолжительности жизни самцов в среднем на 24 %. Потребление нимисулида личинками не влияет на среднюю продолжительность жизни имаго после гипертермии.

Установлено, что развитие личинок в среде, содержащей нимесулид, приводит к увеличению доли потомков от их общего количества на стадии имаго у родительских пар в возрасте 0–8 суток. Так, доля потомков от их общего количества в контроле составила 46,4 %, в экспериментах показатель увеличился до 61,7 %, 51,7 % и 57,6 % при развитии личинок в среде с концентрацией действующего вещества 0,2, 0,1 и 0,05 мг/мл соответственно. Действие максимальной концентрации нимисулида (0,2 мг/мл) увеличивает количество потомков у родительских пар, возраст которых составляет двое суток, в 2,6 раза по сравнению с контролем. Максимальное количество потомков (21,9 %) от имаго в возрасте 8 суток показана для особей, развивались в среде с минимальной концентрацией нимесулида – 0,05 мг/мл. В потомстве родительских особей в возрасте 10–22 суток количество потомков резко снижается в опыте по сравнению с контрольными значениями, и контроле составляет 53,7 %, в опытах – 38,2, 48,3 и 42,4 % при развитии личинок в среде с концентрацией действующего вещества 0,2, 0,1 и 0,05 мг/мл соответственно. Действие концентрации 0,2 мг/мл приводит к снижению количества потомков на стадии имаго у родителей в возрасте 10 суток в 2 раза.

Развитие личинок дрозофилы в среде, содержащей нимесулид, во всех вариантах опыта повышает показатель смертности на стадии куколки по

сравнению с контрольными значениями. Гибель особей на стадии куколки у родителей в возрасте 16 суток превышало контрольные значения в среднем в 7,8 раз, в возрасте 18 суток в 3,1 раза, в возрасте 20 суток – в 3,7 раз.

Полученные данные свидетельствуют о том, что действие нимесулида на постмитотические клетки имаго способствует переходу клеток в режим повышенной стрессоустойчивости, в то время как воздействие на клетки личинок с повышенной митотической активностью приводит к снижению стрессоустойчивости имаго.

In our work, the stress resistance and fecundity of wild type stock *Canton-S Drosophila melanogaster* under influence non-steroidal anti-inflammatory drugs was analyzed. It was been shown that pharmacological inhibition of prostaglandin metabolism leads to an increase of resistance to starvation if virgin adults are exposed to nimesulide during the first day after eclosion, and stress resistance decreases if nimesulide is consumed by larvae. The data obtained revealed a stress-protective effect of nimesulide in drosophila (males) to hyperthermia. It has been established that the development of larvae in a medium containing nimesulide leads to an increases in the proportion of offspring at the imago stage in parental at the age of 0-8 days and increases the mortality rate at the pupal stage. The data obtained indicate that the action of nimesulide on postmitotic imago cells promotes transition of cells to increased stress tolerance, while the impact on actively dividing cells of larvae leads to a decrease in the resistance of the adults.

РОЛЬ ГЕНОВ БЕЛКОВ ТЕПЛОВОГО ШОКА В КОНТРОЛЕ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ У ДРОЗОФИЛЫ

О. В. Горенская[1], М. В. Пасякова[1], М. Б. Евгеньев[2]

[1] - Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, 61022, Харьков, Украина

[2] - Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия
olgavg2014@gmail.com

Вступление

Все живые организмы находятся в непрерывном взаимодействии с внешней средой. Если сила влияния того или иного фактора среды (температура, излучение, химические вещества и др.) выходит за пределы

физиологической нормы ответа у объекта влияния, это вызывает состояние физиологического стресса, характеризующееся модификацией метаболизма и функционирования генома. При этом такое влияние стрессовых факторов может приводить к глубоким функциональным нарушениям, затрагивающим важнейшие клеточные структуры и функции.

Одним из основных факторов внутриклеточной адаптации и устойчивости к неблагоприятным воздействиям являются белки теплового шока (БТШ, Hsp – Heat shock proteins), в частности, Hsp70. Белки теплового шока играют важную роль в восстановлении синтеза клеточных белков при возвращении к нормальным условиям существования. Они являются чрезвычайно важной системой, помогающей клетке преодолеть последствия стрессовых воздействий. Универсальные свойства белков теплового шока, обеспечивающие сохранение надлежащей конформации белков, имеют всеобъемлющий характер и принимают участие в самых разных процессах: в адаптации, в развитии, в мутационном процессе, обучении и памяти, в регуляции апоптоза и прионизации белков. Недавние исследования показали, роль низкого конститутивного уровня Hsp70 в обучении и формировании краткосрочной и долгосрочной памяти у самцов дрозофилы (Zatsepina, 2021).

Для дрозофилы, как для классического объекта генетических исследований, разработаны методы, позволяющие проводить различные манипуляции с геномом. Так, сконструированные линии, имеющие в геноме разное количество генов белков теплового шока, позволяют изучать вклад отдельных генов в контроле адаптивно важных признаков.

Показателями приспособленности к среде обитания является репродуктивная способность и длительность жизни организмов. Таким образом, целью данной работы был анализ некоторых компонентов приспособленности линий *D. melanogaster*, содержащих разное количество генов *Hsp70*.

Объекты и методы исследования

В работе использовали мутантные линии *D. melanogaster*, содержащие разное количество копий *Hsp70*: *8841* (*Hsp*70-null), *8842*, *1♀41♂*. У особей линии *8841* отсутствуют оба локуса, содержащие копии *Hsp70* (87A и 87B). У особей линии *8842* удален локус 87A, но

присутствует 87B, содержащий четыре копии *Hsp70* (Gong and Golic, 2004). Трансгенная линия *1♀41♂* получена из линии *8841* с помощью метода P-опосредованной трансформации в лаборатории М. Евгеньева (Shilova, 2018) и содержит одну копию *Hsp70*. В качестве контроля использовали линию дикого типа *Canton-S*, поскольку, как показано в работе (Feder and Krebs, 1998), в геноме мух дикого типа присутствуют шесть почти идентичных копий генов, которые кодируют Hsp70.

При анализе репродуктивных характеристик определяли среднее количество потомков на стадии имаго от двух родительских пар; подсчитывали количество особей, погибших на стадии куколки; определяли стадии гибели эмбрионов по методу, описанному в работе (Hill, 1945). Рассчитывали показатель медианной продолжительность жизни имаго *Drosophila*.

Результаты и обсуждение

Результаты работы не выявили прямой зависимости между количеством генов белков теплового шока в геноме дрозофилы и жизнеспособностью особей. Так, наибольшее количество потомков на стадии имаго характерно для линий дикого типа *Canton-S* и мутантной линии *8842*, которая содержит четыре копии *Hsp*70. Для линий с делецией всех копий *Hsp70* (*8841*) и только с одной копией этого гена (*1♀41♂*) показатель плодовитости оказался снижен практически в два раза.

Количество погибших на стадии куколки в потомстве особей дрозофилы линии дикого типа в среднем в три раза меньше, чем у мутантных линий с уменьшенным количеством генов белков теплового шока. Очевидно, это может быть связано с нарушениями работы репарационных систем, которые тесно связаны с продуктами генов белков теплового шока.

Анализ стадий эмбриональной гибели показал, что у линии дикого типа максимальное количество погибших эмбрионов приходится на начальные этапы фрагментации бластодермы (первые 5,5 часов развития) и стадию органогенеза (последние 17–22 часы развития). Уменьшение количество копий *Hsp70* в геноме мутантных линий *8841, 8842, 1♀41♂* приводит к снижению жизнеспособности эмбрионов на стадии гаструляции и начальных этапах сегментации (5,5–17 часов развития).

Максимальные медианные значения длительности жизни как самок, так и самцов дрозофилы характерны для линии *8842* и составляют 48 и 34

суток соответственно. У линии дикого типа и линий *8841* и *1♀41♂* показатель практически одинаков и составляет 24–28 суток для самок и 21–23 суток для самцов.

Таким образом, результаты работы показали отсутствие прямой зависимости между количеством генов белков теплового шока в геноме дрозофилы и такими компонентами приспособленности, как репродуктивная способность и длительность жизни имаго. Снижение количества генов белков теплового шока модифицирует репродуктивные характеристики дрозофилы – уменьшается количество потомков на стадии имаго, возрастает гибель особей на стадии куколки. Эмбриональная смертность не изменяется у мутантных линий по сравнению с контролем, но выявлены стадии раннего онтогенеза – гаструляция и начальные этапы сегментации, которые, очевидно, контролируются Hsp70. Так, в экспериментах с трансгенными эмбрионами вьюна *Misgurnus fossilis L.* показано, что экспрессии репортерных генов *lacZ* и *gfp* находятся под контролем двух различных промоторных элементов гена теплового шока *Hsp70* дрозофилы (Андреева, 2006).

Увеличение медианной продолжительности жизни имаго линии *8842* (четыре копии *Hsp70*) по сравнению с контрольной линией дикого типа может быть связано с активацией транскрипционного фактора FOXO. Под его контролем находятся, как известно, гены, которые обеспечивают устойчивость к стрессам и кодируют, в частности, белки теплового шока. Возможно, компенсаторные механизмы связаны с индукцией синтеза Hsp70, приводящие к увеличению продолжительности жизни. С другой стороны, позитивно влияет на продолжительность жизни и сверхэкспрессия гена *Hsp27*, и гена цитоплазматического белка *Hsp22* как стресс-ответа у дрозофилы. Планируемые эксперименты по изучению уровня экспрессии генов белков теплового шока у линий *D. melanogaster*, содержащие разное количество копий *Hsp70,* позволят глубже разобраться в механизмах формирования приспособленности у дрозофилы.

In this study, we investigated a series of important adaptation traits developed in *Drosophila melanogaster* strains with different copy number of *Hsp70* genes. In our experiments, we used mutant lines with gene deletion in all or several *Hsp70* copies: *8841*, *8842* and *1♀41♂*. The wild-type line (*Canton-S* containing the full set of *Hsp70* genes in its genome) was used as control. The results of this investigation demonstrate the importance of the presence of the

full set of *Hsp70* genes in the *Drosophila* genome for adaptation to the environment.

THE OUTLOOK OF MOLECULAR METHODS: IMPLICATION FOR DROSOPHILA RESEARCH

Ie. Gorodetska

OncoRay – National Center for Radiation Research in Oncology, Faculty of Medicine and University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresde, Germany

Liza.Gorodetska@uniklinikum-dresden.de

Introduction: Molecular biology techniques are standard methods used in molecular biology, biochemistry and genetics, which generally involve manipulation and analysis of DNA, RNA and protein (Bartlett et al., 2012). The fruit fly, Drosophila melanogaster, widely used model organism to study disciplines ranging from fundamental genetics to the development of tissues and organs. Drosophila genome exhibits around 60% homology to humans, and about 75% of the disease-causing genes diseases have homologs in flies (Ugur et al., 2016).

Materials and methods: In this abstract, I highlight molecular parallels between fly and human organs that endorse the use of Drosophila to study the molecular pathogenesis underlying human diseases. I reviewed scientific articles using publically available databases, e.g., PubMed Central® (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/) and Research Gate (https://www.researchgate.net/). I discuss assays that have been developed in flies to study the function of specific genes in the different organ systems, including the central nervous system, heart, liver and kidney, and provide examples of the use of these assays to address questions related to human diseases.

Results and discussion: The field of molecular biology is focused mainly on nucleic acids (e.g., DNA and RNA) and proteins – macromolecules that are essential to life processes – and how these molecules interact and behave within cells (Ronai, 2018). Various techniques have been developed for molecular biology. The discipline particularly seeks to understand the molecular basis of genetic processes; molecular biologists map the location of genes on specific chromosomes, associate these genes with particular characters of an organism,

and use genetic engineering (recombinant DNA technology) to isolate, sequence, and modify specific genes (Dahmann, 2008).

The DNA and RNA manipulation technics include DNA and RNA isolation, polymerase chain reaction (PCR), gel electrophoresis, microarrays and RNA in situ hybridization. Nowadays, many protocols were described for the isolation of RNA and DNA from fruit flies. Cold Spring Harbour Protocols, an online scientific journal and methods database, described a standard miniprep for Drosophila melanogaster that requires very few flies and produces high-quality DNA. This method can also be used to isolate RNA when RNase-free conditions are utilized; an extra step must be taken to rid the sample of genomic DNA (e.g., RNase-free DNase digestion) (Huang et al., 2009).

PCR is one of the most important techniques used in molecular biology and is used to copy DNA. PCR allows a single DNA sequence to be amplified into millions of DNA molecules. PCR can also be used to introduce mutations within the DNA or introduce unique restriction enzyme sites. In addition, PCR is used to determine whether a specific DNA fragment exists in a cDNA library. Different types of PCR include reverse transcription PCR (RT-PCR) for amplification of RNA and quantitative PCR (QPCR) to measure the amount of RNA or DNA present (Garibyan and Avashia, 2013). An interesting assay used for Drosophila researchers is a PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) assay that allows to discriminate Drosophila melanogaster from other ecologically relevant Drosophila species at the larval stage (Raquin et al., 2018).

Gel electrophoresis is another essential technique used in molecular biology to separate DNA, RNA, and proteins based on their size by applying an electric field as the DNA is run through an agarose gel (Lee et al., 2012). Quantitative agarose gel electrophoresis has been expanded to include studies of chromatin in the presence of a Drosophila crude extract. The technique allowed subsequent analyses of structural modifications of chromatin that are linked with the recruitment of various chromatin-associated factors present in the provided extracts (Adkins et al., 2006).

DNA microarrays or DNA chip is a collection of DNA spots mounted on a solid surface such as a microscope slide that can be used to simultaneously quantify protein expression levels across a large number of genes. The technique can also be used to genotype various genomic regions. Base pairing,

or hybridisation, is the underlying principle of the DNA microarray (Gupta and Oliver, 2003; Mee, 2005). Research laboratories and companies have developed several types of Drosophila arrays subdivided by the elements deployed for hybridisation: cDNA amplicon, a short oligonucleotide (Gene Chip), long oligonucleotide and genomic amplicon arrays (Gupta and Oliver, 2003; Mee, 2005).

RNA in situ hybridization is a commonly used technique to achieve spatiotemporal detection of transcripts in tissues (Wülbeck, 2007). Several group described the fluorescent in situ hybridization protocols for Drosophila embryos and tissues utilizing tyramide signal amplification, either for single genes or in a high-throughput format, which greatly increases the sensitivity, consistency, economy, and throughput of the procedure (Lécuyer, 2008; Morris, 2009).

Protein investigation technics are widely covered by two-dimensional (2-D) polyacrylamide gel electrophoresis, protein extraction and western blotting. Extraction of proteins can be performed from the whole adult Drosophila or embryos, or different parts, e.g., from the head or eye (Emery, 2007; Gogia et al., 2017; Wodarz, 2008). A western blot experiment or western blotting (also called immunoblotting because an antibody is used to detect its antigen specifically) is a routine technique for protein analysis. The specificity of the antibody-antigen interaction enables a target protein to be identified in a complex protein mixture. Western blotting can produce qualitative and semi-quantitative data about the protein of interest (Kurien and Scofield, 2009). Western blotting, a two-day procedure, the first day involves the isolation of proteins from the tissue and SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide) gel electrophoresis to separate the denatured proteins by their molecular weights. The separated proteins are then transferred to the Nitrocellulose or Polyvinylidene difluoride (PVDF) membrane in an overnight transfer. The second day involves detecting proteins (transferred to the membrane) using Ponceau-S stain, followed by immunochemistry to detect the protein of interest along the total protein transferred to the membrane. The protein of interest is carried out by using a primary antibody against the protein, followed by the binding of a secondary antibody, which is tagged to an enzyme. The protein band can be detected by using the kit, which provides the substrate

to the enzyme. The protein levels can be quantified, compared, and analyzed by calculating the respective band intensities (Gogia et al., 2017).

The last part of my talk will be concentrated on the basic biological mechanisms responsible for uncontrolled growth conserved between humans and flies. I will also discuss how Drosophila models are used to find novel, interesting therapeutic approaches.

МОЖЛИВІ ШЛЯХИ ПОХОДЖЕННЯ *DROSOPHILA SIMULANS* УКРАЇНИ

Н. О. Грубіян[1], С. В. Серга[1,2], О. М. Майстренко[3], І. А. Козерецька[2]

[1] - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

[2] - Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна

[3] - Royal Netherlands Institute for Sea Research, 't Horntje (Texel), Netherlands

nazariy.grubian@gmail.com

Вступ

Drosophila simulans - сиблінговий вид *D. melanogaster*, який має низку спільних рис та займає подібну екологічну нішу (Capy, Gibert, 2004). Незважаючи на меншу стійкість до різних видів стресів та поширеність у природі, нещодавно було показано здатність *D. simulans* колонізувати північні широти, зокрема території Європи з помірним кліматом. Так, було зафіксовано колонізацію *D. simulans* на території України (Serga et al, 2015), а також продемонстрована можливість *D. simulans* реагувати на зміни температури шляхом входження в репродуктивну діапаузу у лабораторних умовах (Zonato et al, 2017). Однак, наразі достеменно невідомі механізми та напрямки поширення *D. simulans* з місць з тропічним та субтропічним кліматом в Європу та, зокрема, на території України. Метою нашої роботи було встановити шляхи поширення *D. simulans* на території України за послідовностями мтДНК та генома ендосимбіонта *Wolbachia,* отриманих шляхом аналізу повногеномних сиквенсів ізосамкових ліній мух.

Об’єкти та методи дослідження

У дослідженні були залучені ізосамкові лінії *D. simulans*, започатковані у 2015 та 2018 роках із популяції Одеси (46°29'13.91"N, 30°43'51.59"E).

Місце збору - це змішаний сад біля житла людини. З отриманих ізосамкових ліній виділяли тотальну ДНК за допомогою фенол-хлороформної екстракції. Повногеномне сиквенування проводили за допомогою Illumina HiSeq2000. Отримані fastq файли були відфільтровані та відібранні для вирівнювання з референтним геномом *D. simulans* (ASM75419v2) з подальшим отриманням vcf файлів з інформацією про наявність однонуклеотидних поліморфізмів (SNP).

З баз даних PopSet та SRA (NCBI) відбирали відомі мітохондрільні геноми *D. simulans* та порівнювали їх із такими з ліній з України за допомогою кластерного аналізу. Матрицю відстаней та візуалізацію кластерної дендрограми отримували за допомогою мови програмування R. Генотип ендосимбіонту *Wolbachia* в складі сиквенованих ліній *D. simulans* визначали шляхом мапування на відомі штами *Wolbachia*, отримані з бази даних Genome (NCBI).

Результати та обговорення

Загалом було відсиквеновано геноми 7 ізосамкових ліній (OD24, OD48, OD57, OD80 були зібрані у 2015 році, Iry7, Iry8, Iry9 у 2018). Також було відібрано та проаналізовано 37 мітохондріальних геномів *D. simulans* з різних регіонів світу (Америка, Африка, Океанія), лінії з яких відносяться до усіх трьох відомих гаплогруп *D. simulans*: siI, siII та siIII (Ballard, 2002). За допомогою кластерного аналізу українських ліній та таких з різних частин світу, була показана найбільша близькість ліній з України до лінії C167 (Кенія, Африка, siII гаплотип), еволюційна відстань між якими була найменшою згідно кластерної дендрограми.

Для генотипування *Wolbachia* у відсеквенованих зразках, використали 5 штамів ендосимбіонта (wHa, wNo, wRi, wAu, wMa), охарактеризованих раніше (Ballard, 2002). За допомогою повногеномного аналізу встановлено наявність штаму wRi у всіх відсиквенованих зразках *D. simulans*. Загалом серед геномів *Wolbachia* з одеських ліній було знайдено 22 мононуклеотидні поліморфізми та інсерції/делеції відносно референсного геному wRi.

Спорідненість місцевих ліній з такими з африканського регіону може свідчити про походження *D. simulans* з теплих тропічно–кліматичних зон, що узгоджується з минулими дослідженнями поширення *Drosophilidae* у помірному кліматичному поясі. Однак слід зазначити, що в Україну особини *D. simulans* могли потрапити і не безпосередньо з Африки, а

через Європу, після колонізації африканськими представниками останньої. Проте для точного з'ясування цього питання необхідно порівняти отримані нами послідовності з геномами мух з Європи, які наразі відсутні у базах даних. Більше того, реальні шляхи та терміни поширення даного виду на Євразійському континенті залишаються не вивченими та потребують подальших досліджень.

In this study, we focused on finding the origin of the local *D. simulans* lines among other populations of flies across the world. There were analyzed 37 mitochondrial genomes of *D .simulans* and provided cladistic analysis for origin estimation of Ukrainian populations. Current results are in favor of African origin of local *D. simulans* populations, which were collected in Odesa in 2015 and 2018 years. We speculate that local Ukrainian populations of *D. simulans* spread from tropical to temperate climate zones. We showed that all local Ukrainian lines were infected by endosymbiont *Wolbachia* (wRi strain). The real ways and terms of spreading of this species across Europe is remaining unknown and requires more genomic analysis of flies from Eurasian continent.

DROSOPHILIDAE УКРАЇНИ ТА ПОЛЬЩІ (ЗБОРИ 2019 РОКУ)

П. А. Коваленко[1], С. В. Серга[2,3], О. В. Проценко[2,3], Н. В. Гора[2], А. Сьлєнзак-Парнікоза[4], М. Ю. Зінченко[5], К. Войцеховський[6], І. А. Козерецька[3]

[1] - Державна установа «Інститут еволюційної екології НАН України», Київ, Україна

[2] - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

[3] - Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна

[4] - Local group for wolf protection on Elbląg Upland, Ельблонг, Польща

[5] - Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, Україна

[6] - Administration of Regional landscape parks of Lublin Vojevodship, Люблін, Польща

pavlo.kovalenko97@yahoo.com

Вступ

Останнім часом, у світлі проблеми глобальних змін клімату, актуальною є проблема динаміки видового різноманіття живих організмів у природних популяціях світу. Зокрема видове різноманіття родини Drosophilidae на території Східної Європи в останні роки є недостатньо

вивченим. Великий інтерес представляють саме моніторингові дослідження, які проводяться із року в рік в одних і тих самих місцях зборів. Метою нашої роботи було встановлення видового різноманіття дрозофілід на території України та Польщі у 2019 році в точках, в яких проводиться збір та аналіз особин з природи протягом попередніх 5 років.

Об'єкти та методи дослідження

Для дослідження були використані мухи, зібрані польовою групою протягом червня-жовтня 2019 року з 21 локалітету на території України: Дмитрушки (Черкаська обл.), Коржове (Луганська обл.), Пирятин (Полтавська обл.), Варва (Чернігівська обл.), Приморськ та Промінь (Запорізька обл.), Глеваха та Вишневе (Київська обл.), Долина та Вигода (Івано-Франківська обл.), Копачі, Чорнобиль, Біостанція, Лісництво, Рудий ліс (Зона відчуження ЧАЕС, Київська обл.), Умань та Умань К, Одеса, Харків, Запоріжжя та Луцьк, а також із 2 локалітетів на території Польщі: Люблін (Люблінське воєводство) і Бжезіни (Вармінсько-Мазурське воєводство).

Для приманювання мух було використано пастки з фруктовими (яблука, виноград, груші) приманками, через кілька діб після їхнього встановлення здійснювали збір імаго за допомогою ентомологічного сачка та ексгаустера. Для встановлення приманок використовували лише місцеві фрукти. Визначення видової приналежності зібраних мух визначали за допомогою ентомологічних визначників із використанням світлової мікроскопії.

Результати та обговорення

Загалом протягом періоду дослідження на території України було зафіксовано 16 видів, що належать до родини Drosophilidae: *Drosophila melanogaster, Drosophila simulans, Drosophila subobscura, Drosophila obscura, Drosophila immigrans, Drosophila busckii, Drosophila repleta, Drosophila hydei, Drosophila transversa, Drosophila funebris, Drosophila phalerata, Drosophila testacea, Drosophila confusa, Drosophila kuntzei, Drosophila histrio, Chymomiza amoena*. Слід зауважити, що найбільш масово у зборах було зафіксовано *D. melanogaster* – особини даного виду зустрічалися в усіх локаціях у великій кількості. Крім того, майже для всіх точок збору характерна наявність особин *D. hydei* та *D. immigrans,* проте у значно менших кількостях. Сиблінговий вид

D. melanogaster – D. simulans, який нещодавно колонізував територію України, був виявлений лише в Одесі та Умані. В Одесі мухи даного виду спостерігаються кожен рік зі збільшенням чисельності у осінніх зборах, в яких вони заміщають особин *D. melanogaster*. В інших локалітетах раніше виявлялися лише спорадично окремі особини, що не дозволяє стверджувати про наявність статичної популяції. В Умані поодинокі особини зафіксовані вперше. Цікаво, що нами не було відмічено появи на території України шкідника сільськогосподарських плодових культур та інвазивного виду *Drosophila suzukii*, який було вперше знайдено на території України у Криму в 2014 році (Lavrinienko et al., 2016). Нових, незадокументованих у попередні 5 років зборів, видів для території дослідження у 2019 році виявлено не було.

Щодо видового різноманіття дрозофілід на території Польщі, то треба відмітити, що протягом періоду дослідження нами було ідентифіковано 17 видів: 15 видів були такими ж, як на території України, проте не було виявлено *D. histrio*, який було знайдено в Україні (травень-червень 2019, Долина), натомість було зареєстровано появу двох інших видів – *Drosophila littoralis* (липень 2019, Бжезіни) та виду-шкідника *D. suzukii* (жовтень 2019, Бжезіни). Наявність інвазії останнього в природних популяціях Польщі було відмічено у зборах 2014 року з двох локалітетів у Польщі (Labanowska and Piotrowski, 2015), а вже з 2015 було зафіксовано його появу на всій території цієї країни (Piotrowski and Labanowska, 2017). Найбільш масово у зборах на території Польщі у 2019, як і на території України, зустрічався *D. melanogaster*, крім того, у великій кількості зустрічалися *D. subobscura*, *D. obscura* та *D. immigrans*.

Цікавим є те, що порівняно з нашими даними за 2015 – 2017 роки (Kovalenko et al., 2018), у Польщі було виявлено кілька нових видів: *D. transversa, D. kuntzei, D. confusa, D. littoralis, C. amoena* (Бжезіни), *D. funebris* (Люблін та Бжезіни).

Враховуючи отримані дані, можна стверджувати, що видове різноманіття дрозофілід на території України залишається сталим, тоді як в Польщі спостерігаються відмінності у виявлених видах у різні роки зборів.

In this study, we examined species diversity of Drosophilidae in Ukrainian and Polish natural populations in 2019. It was identified 15 species the same

species of Drosophilidae for Ukraine and Poland: *D. melanogaster*, *D. simulans*, *D. subobscura*, *D. obscura*, *D. immigrans*, *D. busckii*, *D. repleta*, *D. hydei*, *D. transversa*, *D. funebris*, *D. phalerata*, *D. testacea*, *D. confusa*, *D. kuntzei*, and *C. amoena*; 1 – only for Ukraine: *D. histrio*; 2 – only for Poland: *D. suzukii*, an invasive and pest species of Drosophila, and *D. littoralis*. Also, *D. suzukii*, the appearance of which was reported for Ukrainian natural populations in 2014 (Lavrinenko et al., 2016), was not identified. The most common species in all native populations during our study was *D. melanogaster*. Thus, the species diversity of Drosophilidae in Ukraine remains stable, while in Poland there are differences in the identified species in different years of collection.

НЕ ДРОЗОФІЛОЮ ЄДИНОЮ: *BELGICA ANTARCTICA* – МОДЕЛЬНИЙ ОРГАНІЗМ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ПРИСТОСУВАННЯ ДО ГЛОБАЛЬНИХ ЗМІН КЛІМАТУ

П. А. Коваленко[1], С. В. Серга[2,3], В. А. Горобчишин[1,2], І. А. Козерецька[3]

[1] - Державна установа «Інститут еволюційної екології НАН України», Київ, Україна

[2] - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

[3] - Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна

ilovebiofack@gmail.com

Вступ

Belgica antarctica Jacobs, 1900 (Diptera: Chironomidae) є ендеміком прибережної Антарктики. Протягом понад столітньої історії досліджень цієї комахи вдалося накопичити достатньо інформації щодо її біології та екології, фізіології та біохімії, генетики та особливостей життєвого циклу. Суттєвими поштовхами для дослідження *B. antarctica* стали повне сиквенування геному цього виду у 2014 році, а також демонстрація часткової можливості розвитку у лабораторії під контролем людини. На основі зазначеного вище, можна розглядати цей організм як модельний для вивчення адаптивних механізмів, що забезпечують виживання живих істот в екстремальних умовах навколишнього середовища.

Об’єкти та методи дослідження

Під час написання роботи було опрацьовано 170 наукових праць, присвячених біологічним, екологічним, генетичним і фізіологічним особливостям *B. antarctica*.

Результати та обговорення

B. antarctica зустрічається на Південних Шетландських островах та на території Антарктичного півострова. Згідно з опублікованими даними, найбільш північною точкою, де цей вид був зареєстрований є острів Елефант (Elephant Island): 61°10’ пд.д., 55°14’ зх.ш. (Greene et al., 1967; Usher & Edwards, 1984), а найбільш південною – кряж Ред Рок (Red Rock Ridge): 68°17’пд.д., 67°12’зх.ш. (Usher & Edwards, 1984).

B. antarctica зустрічається у моху, між коренів трав’янистих рослин, у дрібних водоймах із зеленими водоростями, а також у гніздах та гуано птахів (Wirth & Gressitt, 1967; Ochyra et al., 2008; Harada et al., 2014; Parnikoza & Kozeretska, 2020). Личинки живляться продуктами гниття рослинних залишків, водоростями, грибами та мікроорганізмами (Strong, 1967; Sugg et al., 1983; Usher & Edwards, 1984; Rinehart et al., 2006; Harada et al., 2014).

Як і всі інші представники Diptera, *B. antarctica* характеризується голометабольним типом метаморфозу: яйце, личинка, лялечка, імаго (Convey & Block, 1996; Harada et al., 2014; Finch et al., 2020; Kozeretska et al., 2021). Проте, на відміну від більшості інших представників цього ряду, тривалість життєвого циклу в *B. antarctica* суттєво подовжена – два роки, завдяки збільшенню тривалості личинкової стадії (Usher & Edwards, 1984), яка (як і в інших Chironomidae) складається з чотирьох періодів розвитку (Bartlett et al., 2019; Finch et al., 2020). Імаго з’являються протягом антарктичного літа, живуть не більше двох тижнів (Sugg et al., 1983; Usher & Edwards, 1984; Rinehart et al., 2006; Finch et al., 2020). Загалом, подовження життєвого циклу в екстремальних умовах Антарктики й Арктики порівняно з філогенетично близькими видами із тропічних, субтропічних та помірних широт є характерним для безхребетних (Convey et al., 1996; Sovik, 2004; Rinehart et al., 2006). Це може бути наслідком зменшення енергетичної доступності, а не власне еволюційною адаптацією, але, разом із тим, це ще й пов’язано з можливістю успішно

переживати зиму кількома, а не однією личинковими стадіями, що переважно не поширено серед інших безхребетних (Convey et al., 1996).

На відміну від більшості інших хірономід, каріотип *B. antarctica* 2n = 6 (Atchley & Davis, 1979). Проте такий хромосомний набір є характерним для підродини Orthocladiinae (Bauer & Beermann, 1952; Atchley & Davis, 1979). У *B. antarctica*, як і у багатьох інших Chironomidae, є політенні хромосоми (Atchley & Davis, 1979). Для кожної з політенних хромосом встановлено наявність поліморфних варіантів, разом із тим, не встановлено зв'язку між екологічними умовами та рівнем гетерозиготності хромосомних варіантів (Atchley & Davis, 1979).

Геном *B. antarctica* є одним з найменших серед проаналізованих на сьогодні геномів комах – 99,25 Mbp у самок та 98,4 Mbp у самців (Kelley et al., 2014). Цікаво, що кількість функціональних генів у геномі *B. antarctica* загалом близька до таких в інших Diptera – зменшення довжини відбулося завдяки зменшенню кількості мобільних генетичних елементів, повторів, а також вкороченню довжини інтронів (Kelley et al., 2014).

Аналіз структури популяцій *B. antarctica* та філогенетичних взаємозв'язків відносно інших Chironomidae проводився лише у кількох роботах та базувався на основі дослідження послідовностей генів *28S* рРНК та *coxI* мтДНК. Встановлено, що найбільш спорідненим до *B. antarctica* видом за цими маркерами є *Eretmoptera murphyi*, проте для більш чіткого розуміння філогенетичних зв'язків, необхідно провести дослідження за іншими маркерами. За послідовностями *coxI B. antarctica* з 12 різних популяцій чітко розподіляються на 4 гаплогрупи (A–D, 16 гаплотипів) (Allegrucci et al., 2012).

Як і всі інші антарктичні організми, *B. antarctica* характеризується низкою пристосувань, що допомагають йому виживати під дією стресових факторів: низьких температур, висихання, осмотичного стресу, ультрафіолетового випромінювання тощо. Наприклад, личинки цього виду здатні виживати після втрати організмом до 70% води (Benoit et al., 2007; Hayward et al., 2007), імаго менш стійкі до висихання і зберігають свою життєдіяльність при втраті не більше 1/3 об'єму води (Benoit et al., 2007). Крім того, втрата такої великої кількості води супроводжується підвищенням кріостійкості організму – що є стратегією виживання

дрібних членистоногих в умовах від'ємних температур та за присутності льоду (Sorensen & Holmstrup, 2011). Процеси дегідратації та регідратації у личинок *B. antarctica* відбуваються за допомогою білків аквапоринів, які належать до п’яти різних підродин: *Pyrocoeliarufa* та *Rhodniusprolixus* інтегральних білків (PRIP надродина), DRIP-подібний білок, BIB-білки, *Lygushesperus* інтегральний білок (LHIP) (Goto et al., 2011, 2015).

Також цікавою особливістю личинок *B. antarctica* є постійна підтримка на високому рівні експресії генів білків теплового шоку (hsp): *hsp90, hsp70, smhsp*, яка не змінюється залежно від нагрівання чи охолодження личинок (Rinehart et al., 2006). Проте в імаго рівень експресії *hsp* повертається до характерного для інших комах рівня та може індукуватися термічно (Rinehart et al., 2006). Можливим поясненням високого рівня експресії *hsp* у личинок є захист від несприятливих чинників, наприклад низького рівня pH середовища, від’ємних температур та аноксії (Baust & Lee, 1987; Kabakov & Gabai, 1993; Vidair et al., 1996; Chen et al., 2002; Rinehart et al., 2006). Дорослі особини ж існують під час відносно більш сприятливих умов антарктичного літа, коли температура субстрату може бути понад 5°C (Rinehart et al., 2006).

Хоча ще не вдалося домогтися багаторазового відтворення поколінь *B. antarctica* у лабораторних умовах, проте перші кроки у цьому напрямку уже були здійснені. Так, вдалося успішно утримувати личинок протягом кількох місяців (Benoit et al., 2007), у пізніших експериментах вдалося отримати *in vitro* дорослих особин із виловлених у природних умовах личинок (Harada et al., 2014) і домогтися спаровування впійманих у природі імаго з подальшими відкладанням яєць (15% – запліднених) та розвитком личинок на ранніх стадіях (Finch et al., 2020).

Belgica antarctica Jacobs, 1900 (Diptera: Chironomidae) is endemic to Maritime Antarctica. Over centuries of research on this insect enough information has been accumulated about its biology and ecology, physiology and biochemistry, genetics and life cycle details. Significant advances in the study of *B. antarctica* were: a) its genome being completely sequenced in 2014; b) it being shown, partially, to be culturable *in vitro* under controlled conditions. Based on the above, we can consider this organism as a model

featuring adaptive mechanisms that ensure the survival of living beings in extreme environmental conditions.

ОСОБЕННОСТИ ФЛУКТУИРУЮЩЕЙ АСИММЕТРИИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ИЗ ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ БРЕСТСКОЙ ОБЛАСТИ

Н. Ф. Ковалевич, С. И. Страпко

Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, г. Брест, Беларусь galkovnat@gmail.com

Асимметрия рассматривается как маркер реакции организмов и популяций на изменение состояния окружающей среды. На характер проявления флуктуирующей асимметрии (ФА) оказывает влияние различные стресс-факторы. Показатели асимметрии характеризуют случайную изменчивость развития в пределах нормы реакции. Считается, что данная форма асимметрии показывает относительную неэффективность организменных систем контроля процессов развития. Показатели асимметрии часто применяют при оценке состояния природных популяций в популяционной биологии. По мнению некоторых исследователей, уровень ФА положительно связан со степенью неблагоприятного действия условий жизни и отрицательно – с приспособленностью организмов и популяций. *Drosophila melanogaster* является удобным объектом изучения флуктуирующей асимметрии природных популяций, обитающих в различных микроклиматических условиях. Крылья мух являются важнейшей особенностью в размножении. С помощью вибрации крыльев самцы показывают свою готовность к размножению. Это значит, что при неправильном развитии крыловой пластинки снижается половая активность *D. melanogaster*. Аристы являются органом химического чувства, через который устанавливается контакт с окружающей средой, а также играют важную роль в репродуктивном поведении дрозофилы. Крылья и конечности – это основные органы, которые служат для перемещения особей в пространстве. Все перечисленные органы дрозофил – парные органы, что дает возможность оценить степень флуктуирующей асимметрии у особей

из природных популяций. Цель работы – изучить особенности флуктуирующей асимметрии парных признаков *Drosophila melanogaster* из природных популяций некоторых районов Брестской области.

Отлов мух из природной популяции проводился в сентябре 2020 года в нескольких районах Брестской области: Дрогичинский район (агрогородок Бездеж), Жабинковский район (г. Жабинка) и Брестский район (г. Брест). Сбор мух проводился с помощью специальных ловушек. Для исследования использовались мухи из каждой природной популяции в количестве 50 особей. В качестве контроля использовались мухи лабораторной линии Berlin из генетической коллекции кафедры зоологии и генетики БрГУ имени А. С. Пушкина. У имаго с обеих сторон тела анализировались 3 мерных признака и 1 счетный признак. Мерные признаки: длина крыла (ДК), ширина крыла (ШК), длина бедра (ДБ); счетный признак – число веточек аристы (ЧВА). Подсчет числа веточек аристы (ЧВА) проводился при помощи микроскопа МБС-10. Для измерения длины (ДК) и ширины крыла (ШК) были отпрепарированы крылья каждой особи, а для измерения длины бедра (ДБ) – 3-я пара конечностей. Все препараты были сфотографированы с помощью камеры, измерения проводились с использованием программы Universal Desctop Ruler (AVPSoft). По разнице в значениях признаков с правой и левой стороны отдельных особей судили об уровне их асимметрии.

Наибольшие значения флуктуирующей асимметрии имеет счетный признак, для которого также характерна средняя и высокая степень вариации. Для данного признака выявлена корреляция между величиной ФА и коэффициентом вариации. С увеличением ФА ЧВА растет вариация данного признака. Наши результаты подтверждаются исследованиями Гаврикова Д. Е. и Гречаного Г. В. (Гавриков, Д. Е., 2005), которые установили взаимосвязь уровнем изменчивости и величиной ФА. Однако статистически достоверных отличий между популяциями по ФА признака ЧВА не выявлено.

Величины ФА мерных признаков крыла (ДК и ШК) имеют более низкие значения. Величина ФА признака ДК у дрозофил лабораторной линии Berlin и из г. Бреста (Граевка) больше, чем у мух из аг. Бездеж, а у дрозофил из района Граевка г. Бреста выше, чем у мух из г. Жабинка, что подтверждается статистически ($p=0,05$). Сравнение ФА признака ШК не

выявило статистически значимых отличий между выборками. Значение ФА признака ДБ выше у мух из контроля и района Граевка г. Бреста по сравнению с мухами из аг. Бездеж, подобная картина выявлена при сравнении ФА мух из г. Жабинка и лабораторной линии Berlin. Наблюдаемые отличия статистически достоверны при p=0,01. Мухи из лабораторной линии Berlin являются самыми мелкими и характеризуются статистически значимым высоким значением ФА признаков ДК и ДБ по сравнению с природными популяциями из аг. Бездеж и г. Жабинка. Показано, что при высокой температуре развития организмов прирост массы тела опережает морфогенез, что приводит к сильным онтогенетическим шумам (росту ФА) у мелких особей, по сравнению с крупными, развившимися при оптимальных условиях. По мнению Гаврикова Д. Е. и Гречаного Г. В. (Гавриков, Д. Е., 2005) сходная связь между размером имаго и уровнем ФА их признаков, может возникать при высокой плотности населения, нехватке корма и действии тому подобных факторов.

Величина относительной флуктуирующей асимметрии для всех количественных признаков линии Berlin *D. melanogaster*, культивируемых в лабораторных условиях, составила 0,028, у мух из природной популяции г. Брест (микрорайон Граевка) показатель относительной величины асимметрии равен 0,04, что превышает значение контроля. При сравнении ФА этих выборок статистически значимых отличий не выявлено.

В выборке мух из природной популяции г. Жабинка показатель относительной величины асимметрии равен 0,025. Это значение является более низким, чем в выборке, которая использовалась в качестве контроля. Их различия недостоверны. Можно предположить, что в частном секторе г. Жабинка, где проводился сбор особей, условия для существования и нормального развития дрозофил в осенний период являются оптимальными. Различия же между величинами ФА у дрозофил из природной популяции г. Брест (микрорайон Граевка) и г. Жабинка статистически значимы при p=0,05.

В выборке из природной популяции Дрогичинского района (аг. Бездеж) величина флуктуирующей асимметрии составила 0,0747. Проверив статистические данные по t-критерию Стьюдента было

установлено, что различия между выборкой из аг. Бездеж и остальными являются достоверными, так как уровень значимости <0,05.

Таким образом, при изучении ФА выявлены статистически значимые различия между выборками из аг. Бездеж и всеми остальными, также между выборками из г. Брест (микрорайон Граевка) и г. Жабинка. Самый высокий уровень ФА установлен для выборки из аг. Бездеж. Помимо микроклиматических условий, на уровень ФА могут оказывать влияние такие факторы, как плотность населения, количество корма и т. д.

Asymmetry is considered as a marker of the response of organisms and populations to changes in the state of the environment. The character of manifestation of fluctuating asymmetry (FA) is influenced by various stress factors. The features of fluctuating asymmetry of such paired characters of *Drosophila melanogaster* as wing length and width, femur length and number of arista branches from natural populations of some areas of the Brest region were studied. The study of FA revealed statistically significant differences between the samples from the city of Bezdezh and all the others, as well as between the samples from the city of Brest and the city of Zhabinka. The highest FA level was established for the sample from the city of Bezdezh.

ВПЛИВ pH ЇЖІ НА ЛИЧИНКОВІЙ СТАДІЇ НА ТРИВАЛІСТЬ ЖИТТЯ ІМАГО ДРОЗОФІЛ

Н. М. Кошель, Л. В. Мехова, С. Г. Иванов, А. В. Писарук
Державна установа «Інститут геронтології ім. Д.Ф. Чеботарьова НАМН України», Киев, Україїна
nkoshel11@gmail.com

Незважаючи на поширене використання дрозофіли як моделі в дослідженнях харчування, вплив основних властивостей їжі, таких як pH, на здоров'я та поведінку тварин недостатньо відомий. Багато досліджень біологічних явищ не враховують фундаментальних хімічних процесів, одним з яких є pH..Значення pH їжі потенційно впливає на ряд чутливих біологічних параметрів, таких як ріст мікробів на харчовому субстраті, гомеостаз кишечника та харчову поведінку. Досліджено, що pH та / або

буферна здатність їжі можуть впливати на внутрішню кислотно-лужну рівновагу або на розчинність і перетравлення дієтичного білка. Як і кишківник ссавців, травний тракт мух має чіткі ділянки, де pH кислий або лужний, і жорстко регулюється. Кислотність харчових продуктів або pH навколишнього середовища часто розпізнають за допомогою смакових або нюхових хеморецепторів. Ряд досліджень продемонстровули, що склад їжі сильно впливає на поведінку дрозофіли, обмін речовин і виживання. pH їжі сприяє змінам фізіології тварин, обміну речовин та тривалості життя. Такі зміни можуть бути опосередковані впливом pH їжі на смакові якості та харчову поведінку, впливати на такі параметри, як зростання мікробів, що в кінцевому рахунку може впливати на життєдіяльність дрозофіли.

Результати дослідження впливу pH на тривалість розвитку дрозофіл показали, що при pH живильного середовища рівному 5 тривалість розвитку найкоротша (235 годин). При цьому достовірні відмінності мають місце тільки між тривалістю розвитку при pH = 5 і всіма іншими значеннями pH, тривалість розвитику яких проходила в діапазоні від 250 до 265 годин ($p < 0,05$). Тривалість розвитку при pH 6, 7, 8 і 9 достовірно між собою не відрізнялась. Отриманий результат можна пояснити відомою залежністю активності ферментів від pH. Ймовірно, для ферментів дрозофіл, від яких залежить швидкість їх розвитку, кисле середовище є оптимальним.

На стадії імаго всі групи дрозофіл, які розвивалися при різному pH живильного середовища, утримували в однакових умовах на стандартному середовищі протягом усього життя. Реєстрація зміни кількості живих мух з періодом 2 доби в різних pH-групах показала, що криві їх виживання суттєво не розрізняються, за винятком тієї групи, розвиток якої проходив в середовищі з pH = 5. Дрозофіли цієї групи жили значно довше, як самці, так і самки.

Були розраховані СТЖ і МТЖ дрозофіл, які розвивалися при різному pH. Порівняння отриманих середніх значень цих показників у всіх pH-групах (для кожної статі окремо) методом однофакторного дисперсійного аналізу (*ANOVA* з подальшим *Tukey's HSD test*) показало достовірний вплив фактору pH на СТЖ самців ($F(5,626) = 36,2$; $P<0,001$) і самок ($F(5,613) = 46,3$; $P<0,001$) дрозофіл. Контрольні значення СТЖ у самців

складали 65,7±1,48 діб, у самок – 63,9±1,25 діб. Самці та самки, розвиток яких проходив при pH5 мали СТЖ 64,1±1,85 діб та 58,6±1,28 діб відповідно. Їх тривалість життя достовірно не відрізнялась від контролю. Тривалість життя комах, розвиток яких проходив при pH 6, 7, 8 та 9 була достовірно нижче у порівнянні з контролем та pH 5 ($P<0,001$), та для самців СТЖ складала відповідно 43,3±1,90, 42,4±1,84, 48,7±2,21 та 43,4±1,92 діб, для самок – 38,2±1,90, 35,9±1,78, 43,7±1,84 та 41,3±1,93 діб. Аналогічні результати отримані для МТЖ самців ($F (4,60) = 66,9$; $P<0,001$) і самок ($F (4,60) = 11,2$; $P<0,001$) дрозофіл.

Результати, одержані в нашому дослідженні можуть бути пов’язані з впливом pH на мікробне заселення поживного середовища, а воно асоційоване з тривалістю життя. Так, продемонстровано, що протеобактерії (в першу чергу ацетобактер) домінують в кислому раціоні, а фімікути виявляються більш поширеними на середовищі pH 9. В кислому раціоні переважали ентерокок і лактобактерії, тоді як у їжі з pH 7 або 9, були переважно *Bacillus*. Також, в цьому дослідженні показано, що кисла дієта у личинок збільшувала тривалість життя імаго дрозофіл порівняно з мухами, личинки яких розвивалися на їжі з нейтральною чи лужною pH. Можна припустити, що високий pH їжі може сприяти дисбактеріозу, збільшуючи присутність патогенних в порівнянні з коменсальними бактеріями, що врешті-решт змінює гомеостаз кишечника та погіршує здоров'я. Враховуючи велику кількість кислот у натуральному харчовому субстраті для *D. melanogaster* та потенційну користь мікробів, що виробляють кислоту, для здоров'я та розвитку, не дивно, що мухи віддають перевагу слабокислому раціону. Таким чином, отримані результати суперечать концепції подовження тривалості життя при уповільненні розвитку. У кислому середовищі розвиток дрозофіл відбувався помітно швидше, проте тривалість життя не скорочувалася, а навпаки, значно збільшувалася. Це можна пояснити тим, що кисле середовище є оптимальним для розвитку дрозофіл, відповідаючи природним умовам їх розвитку. Тому, в кислому середовищі розвиток мух відбувається найбільш повноцінно і тривалість життя таких особин максимальна.

A study was conducted of the effect of pH of the environment at the stage of development on the duration of development and life expectancy of *D.*

melanogaster. A significant acceleration of the rate of development at pH 5 compared with pH 6 and above. Life expectancy in insects that developed on pH 5 was significantly higher compared to pH 6, 7, 8 and 9 ($p < 0.001$). Therefore, the pH of the environment at the stage of development is an important factor influencing the life expectancy of adult insects, which must be taken into account when planning experimental studies

GENOMICS OF SYMBIOSIS

O. M. Maistrenko[1,2], M. T. Heichenko[3], N. V. Gora[3], S. V. Serga[1,3,4], I. A. Kozeretska [1,4]

[1] - European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)
[2] - Royal Netherlands Institute for Sea Research, 't Horntje (Texel), Netherlands
[3] - Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine
[4] - National Antarctic Scientific Center of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Introduction

Symbiotic interactions are known to be one of major sources of innovation across the Tree of Life. Symbiosis resulted in such major complexity transitions as emergence of Eukaryotes and Plants. Nearly all macroorganisms co-exist with numerous microorganisms that affect their fitness and evolvability (McFall-Ngai et al., 2013). Microorganisms also display signatures of drift and selection in their population structure which depends on the mutualism-parasitism balance in the host-symbiont interactions. One notable example are heritable symbionts such as *Wolbachia* that were shown to contribute to hosts' fitness with reproductive manipulation, elevated resistance to viruses, production of vitamins and many other in various species of Arthropods and Nematodes. Different strains of *Wolbachia* that infect *Drosophila melanogaster* have only mild influence on host phenotype, thus, reasons for its maintenance and its population dynamics remain unclear. Moreover, it has been hypothesized that the *w*MelCS group of genotypes of *Wolbachia* was replaced by the *w*Mel-group (Richardson et al., 2012, Riegler et al., 2005) in populations of *D. melanogaster* world-wide implying different fitness advantages in different genotypes. To further test the replacement hypothesis we use a large whole genome re-sequencing resource of *D. melanogaster* sampled from natural populations in >20 localities across Europe to investigate frequencies of different rare and common strains of *Wolbachia*.

Methods

We used the raw pooled sequence data of *D. melanogaster* collected in 2014 by the European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)(Kapun et al., 2020). Reads were mapped using bwa aligner and variant calling performed using samtools and vcftools. To classify *w*Mel-like and *w*MelCS-like strains of *Wolbachia* we compiled a list of genotype/clade-specific single nucleotide polymorphisms (Chrosteck et al, 2013, Versace et al, 2014) and calculated their relative frequency in all samples.

Results and discussion

Both the rare older *w*MelsCS group of genotypes and the novel *w*Mel group of genotypes have been observed in many populations in Europe. Surprisingly, *w*MelCS group was detected at the high frequenciesin countries where it has never been observed before, for example Spain, France, Denmark, UK with frequencies 0.07, 0.25, 0.13, 0.08 respectively. This result potentially suggests that replacement of *w*MelCS *Wolbachia* strains by *w*Mel strains in European populations is incomplete. Such unexpected dynamics partially can be explained by various studies on fitness effects of different *Wolbachia* genotypes which show context- and genotype-dependent influence on hosts' fitness. For example, *w*MelCS genotypes induce virus resistance (Chrostek et al., 2013), while *w*Mel genotypes enhance reproductive success at cost of reduced longevity but only in some of the fly lines (Serga et al., 2014, 2021). Further research is needed to fully understand what potential fitness advantages *w*MelCS genotype is bringing so it is maintained at high frequencies in many populations in Europe and world-wide.

ВПЛИВ ГЕНЕТИЧНОГО І ФАРМАКОЛОГІЧНОГО ПРИГНІЧЕННЯ ТРИПТОФАН-КІНУРЕНІНОВОГО ШЛЯХУ НА ЛОКОМОТОРНУ АКТИВНІСТЬ ІМАГО *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Навроцька В. В., Орлова А. В.

Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна, Харків, Україна
navrotskaya@karazin.ua, nastya.orlova77@gmail.com

Вступ

Кінуреніновий шлях обміну триптофану привертає увагу дослідників тим, що його метаболіти (сукупність яких називається кінуреніни)

залучені у багато процесів, які відбуваються в організмі. Зокрема, є багато свідчень нейроактивності кінуренінів у хребетних і безхребетних тварин. Відхилення у вмісті і співвідношенні кінуренінів є причиною багатьох патологічних станів у людини, у тому числі нейродегенеративних. Зміни кінуренінового шляху, його відхилення від нормального перебігу спостерігаються при старінні (Oxenkrug, 2010; de Bie et al., 2016). Реакції кінуренінового шляху у дрозофіли та ссавців подібні. Мутанти цього метаболічного шляху у дрозофіли добре вивчені, тому дрозофіла використовується як модель для дослідження ролі кінуренінового шляху у старінні та для пошуку засобів корекції вік-залежних змін пристосованості і подовження тривалості життя шляхом впливу на цю ланку метаболізму (Navrotskaya et al., 2014; Oxenkrug et al., 2011). Відомо, що показники, які характеризують навчання, локомоцію, геотаксис і фототаксис дрозофіли, демонструють суттєве і прогресуюче зниження, звичайно починаючи з 1–2 тижнів віку. У низці робіт показано, що зниження вмісту кінуренінів в організмі може гальмувати процеси старіння (van der Goot et al., 2012; Oxenkrug et al., 2011). Але чи будуть особини з подовженою тривалістю життя зберігати нормальну активність, у тому числі локомоторну? Адже відомо, що не завжди засоби, які призводять до подовження тривалості життя (life span), одночасно зумовлюють і подовження тривалості здорового життя (health span), стримуючи вік-залежне зниження функцій організму. Метою роботи було дослідження локомоторної активності молодих та старіючих імаго дрозофіли при генетичному пригніченні (шляхом введення у генотип мутації *vermilion*) або фармакологічному пригніченні (шляхом додавання до поживного середовища берберину – інгібітора триптофандиоксигенази) триптофан-кінуренінового метаболізму.

Об’єкти та методи дослідження

У роботі було використано лінії дрозофіли з колекції кафедри генетики і цитології біологічного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, яка є Національним надбанням України: лінії дикого типу *Canton-S (C-S)* і *Oregon-R* (*OrR*); лінії, у яких мутація *vermilion* шляхом насичуючих схрещувань була переведена на генетичний фон лінії *OrR* або *C-S*, ці лінії з вирівняним генотипом у результатах досліджень позначаються як *v(OrR) і v(C-S)* відповідно. Мутація *vermilion*

порушує синтез ферменту триптофандиоксигенази, внаслідок чого кінуреніновий шлях блокується на етапі перетворення триптофану на формілкінуренін, що призводить до відсутності кінуренінів в організмі. Фармакологічне пригнічення кінуренінового шляху здійснювали шляхом додавання до поживного середовища інгібітора триптофандиоксигенази – берберину (Sigma Aldrich Chemical Co, USA), у концентрації 1 мМ (діюча концентрація була підібрана у попередніх роботах – Navrotskaya et al., 2012). Берберин – це алкалоїд, який входить до складу деяких лікарських рослин, є сполукою з високою біологічною активністю, має терапевтичні властивості та є одним з найбільш сильних інгібіторів триптофандиоксигенази. У наших попередніх дослідженнях було показано, що берберин здатний підвищувати тривалість життя і життєздатність дрозофіли, але можливість корекції вік-залежного зниження локомоції з допомогою такого підходу ще не досліджувалась.

Мух культивували на стандартному цукрово-дріжджовому середовищі (в експериментах з фармакологічного пригнічення кінуренінового шляху до нього додавали берберин) за температури 23°С. Одноденних імаго збирали, окремо самок і самців, по 30 мух у пробірку, а потім регулярно пересаджували на свіже середовище кожні три дні. При досягненні віку 3 доби і далі 1 та 2 тижнів (у більшості експериментів також 3, 4 і 5 тижнів) оцінювали локомоторну активність імаго у цих групах. В експериментах використано 10 повторень для кожного варіанта. Використовували «клаймбінг-тест» – метод оцінки здатності мух підніматися по стінках пробірки після струшування на дно, тобто оцінки локомоторної реактивності, здатності організму рухатися у відповідь на дію стимулу, проти гравітації (негативний геотаксис), що характеризує в тому числі і рівень пристосованості мух. Для тестування цього показника групу мух поміщають на дно пробірки, яку накривають такою самою, але перевернеою, через 30 с пробірки роз'єднують і визначають відсоток мух, що перемістилися у верхню пробірку, від загальної кількості мух в групі. Тестування проводили без попередньої наркотизації ефіром. Оцінку локомоторної активності проводили не одразу після внесення мух у пробірки для тестування, а давали час для адаптації. Статистичну значущість відмінностей між групами за % активних особин визначали, використовуючи точний критерій Фішера.

Результати та обговорення

Особини лінії *OrR*, обох статей, більш активні, у порівнянні з мухами лінії *C-S*, у молодому віці та при старінні. Локомоторна активність імаго ліній дикого типу знижується починаючи вже з однотижневого віку. Майже в усіх точках спостережень значення показника вище для самців; крім того, самці довше зберігають високий рівень активності, особливо це характерно для лінії *OrR*: у той час як самки цієї лінії у віці 3–5 тижнів проявляють майже нульову активність, самці цього віку зберігають достатньо високий рівень активності. В іншій лінії, *C-S*, самки демонструють різке падіння рухливості вже у віці 2 тижні (у п'ять разів у порівнянні з попередньою точкою), самці знижують локомоторну активність лише у два рази у порівнянні з віком 1 тиждень. Введення мутації *vermilion* до генотипу лінії дикого типу *OrR* привело до зниження рухливості самок. Це характерно тільки для молодого віку (3 доби). В усіх наступних точках спостережень значення показника вищі для самок лінії *v(OrR)*. При порівнянні самців лінії *OrR* і *v(OrR)* також показана вища активність особин дикого типу, у триденному і однотижневому віці. Серед старіших мух (віком 2, 3 і 4 тижні) знову ж таки активність вище у мутантної лінії. При порівнянні пари ліній *C-S* і *v(C-S)* у молодому віці більша активність властива мутантним мухам, які мають дефіцит кінуренінів, це відрізняє цю пару ліній від пари *OrR* і *v(OrR)*. Однак позитивний ефект мутації при старінні відзначено і в цьому випадку – у віці 4-х тижнів окремі мухи – носії мутації ще проявляють активність, а мухи дикого типу до цього віку майже всі загинули, а з тих, хто залишився, нікому не вдалось переміститись до верхньої пробірки при тестуванні.

Отже, особини обох мутантних ліній, *v(C-S)* і *v(OrR)*, демонструють вищу активність при старінні, але у молодих особин введення у генотип ліній дикого типу мутації *vermilion* призводить до різних ефектів – зниження рухливості у лінії *v(OrR)* та її стимуляцію у лінії *v(C-S)*. З огляду на здатність кінуренінів діяти в основному збуджуючим чином на нервову систему, більш очікуваним від пригнічення кінуренінового шляху є перший ефект. Експеримент з лініями *v(C-S)* і *C-S* було повторено: мутацію *vermilion* знову ввели у генотип лінії дикого типу *C-S*, тобто була створена нова лінія з вирівняним генотипом *v(C-S)*. Стимулюючий вплив мутації на рухливість самок і самців, і у молодому віці, і при старінні було встановлено і у цьому експерименті. Таким чином, вплив мутації *vermilion*

на активність особин молодого віку може бути різним: і стимуляція, і пригнічення рухливості, що, ймовірно, визначається взаємодією генів та плейотропними ефектами даної мутації. Але ефект мутації стосовно сповільнення вік-асоційованого падіння рухливості мух є однозначним і підтвердився в описаних трьох експериментах.

При додаванні берберину до поживного середовища відзначено збільшення активності самок лінії *C-S* у віці 2 тижні, самок лінії *OrR* у віці 3 дні. Самці лінії *C-S*, які на стадії личинки споживали берберин, впродовж усього терміну спостереження мали вищу активність, ніж у контролі, а самці лінії *OrR* характеризувались високою локомоторною активністю в усіх вікових точках, і у контролі, і при впливі інгібітора, відмінності між контролем і дослідом не значущі. Таким чином, берберин, призводячи, як відзначено у інших роботах, до збільшення тривалості життя дрозофіли, здатний стимулювати і локомоторну активність і молодих, і старіючих мух. Відомо, що берберин знижує активність триптофандиоксигенази і таким чином знижує вміст кінуренінів в організмі, а це, як відзначається у багатьох роботах, має позитивний ефект на пристосованість дрозофіли та інших організмів.

Розглядаючи наслідки блокування кінуренінового шляху відносно поведінки і старіння, потрібно мати на увазі, що не тільки відсутність чи наявність кінуренінів в організмі сама по собі впливає на показники, що оцінюються. Звичайно, кінуреніни є здебільшого збуджуючими нервову систему речовинами, здатними впливати на нейротрансмітери, окремі метаболіти цього біохімічного шляху мають нейротоксичні властивості, інші – нейропротекторні, деякі можуть викликати підвищення утворення вільних радикалів у клітині. Усе перелічене, звичайно ж, впливає на старіння і компоненти пристосованості організму. Але якщо пригнічується кінуреніновий шлях метаболізму триптофану, то більш активним може стати перетворення триптофану за іншими метаболічними шляхами, наприклад, серотоніновим, з утворенням серотоніну, мелатоніну. Мелатонін, за даними літератури, позитивно впливає на життєздатність осіб, захищає від стресу. Ці процеси, звичайно ж, також можуть впливати на поведінку мух і на їх старіння.

Роботи останніх років вказують на нейпротекторний ефект дефіциту кінуренінів в організмі безхребетних і ссавців. Результати нашої роботи

свідчать про те, що дефіцит кінуренінів може надавати перевагу особинам і в процесі старіння, розширюючи межі активного життя, підвищуючи тривалість здорового життя.

Locomotor (climbing) activity of young and aged drosophila imago at genetic inhibition (by introducing *vermilion* mutation into the genotype of wild-type stocks) or at pharmacological inhibition of tryptophan-kynurenine metabolism has been analyzed. Interstock (higher activity of *Oregon-R* stock compared to *Canton-S* stock), sex (higher activity of males) differences have been revealed in the locomotor activity of imago, as well as age-related dependence (decline of locomotion beginning at 1 week of age). The introduction of the mutation *vermilion* into the genotype of wild-type stocks lead to a decrease (in the case of *Oregon-R*) or an increase (in the case of *Canton-S*) of young flies' locomotor activity, but in both cases resulted in the increase of locomotion among old individuals. The addition of berberine (a kynurenine pathway inhibitor) to the nutrient medium stimulated the locomotor activity of young (in the case of *Oregon-R*) and aging (in the case of the *Canton-S*) wild-type flies.

ВПЛИВ СПЕРМІДИНУ НА ПРОЯВИ НЕЙРОДЕГЕНЕРАЦІЙ У МУТАНТІВ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА ГЕНАМИ Sod^1 ТА sws^1

З. М. Новосядла, О. В. Бондарчук, Х. М. Гавришкевич, Я. І. Черник, Н. П. Матійців

Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра генетики та біотехнології, м. Львів, Україна

nataliya.matiytsiv@lnu.edu.ua, zoriana76@gmail.com

Вступ

Нині ефективне лікування нейродегенеративних розладів залишається невирішеною проблемою. В усьому світі спостерігається постійна тенденція до збільшення кількості осіб, які страждають від таких захворювань (Sosa-Ortiz, 2012). *Drosophila melanogaster* є хорошою тест-системою для вивчення нейродегенеративних захворювань. Серед чинників, які значною мірою впливають на розвиток дегенеративних змін,

виділяють оксидативний стрес. У ході розвитку оксидативного стресу відбувається активація перекисного окислення ліпідів (ПОЛ), основними продуктами-маркерами якого є дієнові кон'югати та ТБК-позитивні продукти. Дослідження останніх років вказують на тісний зв'язок між виникненням нейродегенерацій і порушенням у системі антиоксидантного захисту організму, насамперед в активності супероксиддисмутази. Для дослідження стану антиоксидантної системи організму зручними є мутанти *D. melanogaster* з порушеним функціонуванням генів, які кодують супероксиддисмутазу. У дрозофіли, як і у людини, існує декілька ізоформ цього ферменту, зокрема це Cu^{2+}-Zn^{2+} СОД (кодується геном *Sod*^{1}, який локалізується в районі 68A7 у 3-й хромосомі у дрозофіли) (Allen, 2012). Відомо, що мутанти за геном *Sod*^{1} мають підвищену чутливість до оксидативного стресу, вкорочену тривалість життя і дегенерацію тканини мозку (Вітушинська, 2015).

Однією з найбільш досліджених (Kretzschmar, 1997) мутацій, яка зумовлює апоптоз нейронів та гіперобгортання їхньої соми гліальними клітинами, є мутація гена *swiss cheese (sws).* Ген *sws* є не лише гомологом, але й функціональним ортологом гена нейротоксичної естерази (NTE) ссавців. Фенотиповими маркерами розвитку нейродегенерацій є, зокрема, поведінкові реакції та порушення тривалості життя (основні показники життєздатності мух).

Важливим є пошук нових лікарських препаратів, які б поєднували як нейропротекторні, так і антиоксидантні властивості. Спермідин – це поліамінова сполука, яка є у всіх еукаріотичних клітинах та бере участь у клітинному метаболізмі. В експериментах на дрозофілі показано, що спермідин здатний підвищувати цитопротекторну аутофагію, уповільнювати процес старіння, знижувати розвиток дегенеративних змін (Madeo, 2018). Однак є дані, які свідчать про те, що спермідин може виступати в ролі прооксиданта (Маклецова, 2013). Тобто, він може впливати на ключові показники життєздатності мух (рухову активність, тривалість життя). Метою роботи було дослідити вплив спермідину на прояви нейродегенерацій у мутантів *D. melanogaster* за генами *Sod*^{1} та *sws*^{1}.

Об'єкти та методи дослідження

У досліді як модельний об'єкт використовували плодову мушку *D. melanogaster*, яка є зручною тест-системою для вивчення патологічних

станів нервової системи (*Sod*$^{[x-39]}$; мутантна лінія *sws*^{1} (люб'язно надана проф. Д. Кречмар); як контроль ми використовували лінію дикого типу *Oregon R*). Експерименти проводили лише на самцях. Вплив препарату, внесеного у середовище у концентрації 5 mM, аналізували методами личинкового та дорослого згодовування. Для визначення індексу рухової активності (IPA) провели клаймбінг-тест із 13-15-денними самцями контрольної та дослідної ліній; показники загального пробігу, часу вмивання, часу руху та часу спокою встановили методом «відкритого поля». Аналіз дегенеративного фенотипу тканини мозку здійснили шляхом виготовлення гістологічних зрізів (Heisenberg, 1979). Визначали вміст основних продуктів перекисного окиснення ліпідів – дієнових кон'югатів та ТБК-позитивних продуктів, за методом Стальної (Стальная та ін., 1977). Загальну кількість білка у пробі визначили методом Лоурі (Lowry et al., 1951). Статистичну обробку даних здійснили у програмі Microsoft Excel, використовуючи пакет аналізу даних – двовибірковий t-тест з різними дисперсіями (у випадку визначення концентрації продуктів ПОЛ). Криві виживання будували за допомогою програмного забезпечення «GraphPad Prism 6», достовірність оцінювали за Log-rank тестом.

Результати та обговорення

На підставі визначення індексу рухової активності методом climbing-тест, встановлено зниження рухової активності у *Sod*^{1}-мутантів до рівня контролю за дії спермідину. Таке зниження є достовірним ($p<0,001$ (***). Також, методом відкритого поля з'ясовано, що за дії спермідину показник загального пробігу зменшився ($P < 0,01$ (*)) як у контрольних, так і у дослідних особин *Sod*^{1}-мутантів. Таким чином, у випадку СОД-системи спермідин показав ефект гальмування рухової активності мух. Методом личинкового згодовування ми не виявили впливу спермідину на IPA мух контрольної (*Oregon R*) та дослідної (*sws*^{1}) ліній; у разі згодовування спермідину імаго встановлено достовірне зростання ($P < 0,01$ (*)) показника IPA у лінії *Oregon R*. Таким чином, наші результати свідчать про неоднозначну дію спермідину на рухову активність мух з різними генотипами.

Інтенсифікація ПОЛ, як результат оксидативного стресу, є характерним для *Sod*^{1}-мутантів, які мають порушення роботи

супероксиддисмутази (фермент антиокидантного балансу). Основними продуктами-індикаторами ПОЛ є ДК та ТБК, тому ми з'ясували їх рівень. За впливу спермідину інтенсифікуються процеси ПОЛ: у контрольної лінії зростає рівень ДК (у *Sod*^{1}-мутантів залишається незмінним), а у дослідної лінії – ТБК-позитивних продуктів.

За дії спермідину достовірно знижується ($P<0,0001$ (****)) показник середньої тривалості життя (S_{50}) як у контрольної (на 9,4%) так і у мутантних ліній (*Sod*^{1} на 52,7% та *sws*^{1} на 13,4%) ***D. melanogaster.*** Отже, у разі застосування препарату спермідину відбувається достовірне зниження середньої тривалості життя *Sod*^{1} та *sws*^{1}, що підтверджує одну з тез про те, що спермідин може діяти як прооксидант, активуючи процеси перекисного окиснення ліпідів, та зумовлювати загибель нейронів, а це своєю чергою, впливає на життєздатність особин.

Для мутантів *sws*^{1} характерний яскравий дегенеративний фенотип тканини мозку, який прогресує зі старінням особин. Ми порівняли гістологічні зрізи тканин мозку 13-денних самців *sws*^{1}вирощених на стандартному живильному середовищі й на середовищі з додаванням спермідину у концентрації 5мМ. У результаті проведення кількісного аналізу, ми не виявили достовірних змін розмірів площ дегенерацій у ламіні (личинкове згодовування - $p=0,12$, доросле - $p=0.20$) та медалі (за личинкового споживання $p=0,13$ та $p=0,08$ при дорослому згодовуванні) (програмне забезпечення Image J). Таким чином, у разі споживання 5мМ розчину спермідину личинками й дорослими особинами розмір зон дегенерацій не змінився.

Результати досліджень дозволяють припустити, що ефект спермідину неоднозначний і залежить від генотипу досліджуваних особин. Власне тому є критично важливим застосування різних моделей, при вивченні впливу такої сполуки. Згідно з літературними даними (Madeo, 2018), вивчення дії сполук, які впливають на життєздатність: нейропротекторів, антиоксидантних та інших, проводиться з використанням лише однієї лінії й це, як правило, лінія дикого типу. Наші результати вказують на необхідність використанням модельних систем із різним генотиповим фоном, оскільки це може значно вплинути на висновки досліджень, особливо при вивченні неоднозначної дії сполук на параметри життєздатності.

In the case of the *Sod*[1]-mutants, spermidine showed an effect of inhibiting the locomotor activity of flies by using the climbing- test method and the open field method. Spermidine intensifies the processes of lipid peroxidation in *Sod*[1]-mutant. The action of the drug significantly reduces the survival of both control and mutants lines of *D. melanogaster*. We also found that after feeding spermidine to *sws*[1] 13-day-old adult flies there was no significant difference in the brain degeneration zone size in lamina and medulla. Our results indicate the need to use model systems with different genotypes, as this can significantly affect the conclusions of research, especially when studying the ambiguous effect of compounds on viability parameters.

УЧАСТЬ УКРАЇНИ В МІЖНАРОДНОМУ СОЦІАЛЬНОМУ НАУКОВОМУ ПРОЕКТІ MELANOGASTER: CATCH THE FLY! (#MELANOGASTERCTF)

Д. Б. Радіонов[1,2], С. В. Білоконь[1], Т. Г. Алєкссєва[1], І. А. Козерецька[3]

[1] - Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Біологічний факультет, Одеса, Україна,

[2] - Приватна організація "Одеський ліцей "Мрія" Одеса, Україна

[3] - Національний антарктичний науковий центр МОН України, бульвар Тараса Шевченка 16

pppankovae@gmail.com, t.alieksieieva@onu.edu.ua, s.v.belokon@onu.edu.ua

iryna.kozeretska@gmail.com

В останні роки бурхливо розвиваються так звані соціальні наукові проєкти, покликані залучити широку ненаукову громадськість у наукові дослідження, в рамках яких наукові установи і організації співпрацюють з неспеціалістами, і широко залучають різні громадські організації і окремі верстви населення до співпраці у різних напрямках і галузях науки. Завдяки такій діяльності люди – добровольці, які не є науковцями та ідентифікуються як соціальний вчений (citizen scientists), можуть робити суттєвий внесок в розвиток сучасних наукових досліджень і допомагати отримувати важливі і актуальні результати. Починаючи з 90х років XX ст. такі проекти, за підтримки НАСА, почали з’являтись в астрономії і дослідженнях навколоземного простору. З початку XXI ст. все більше соціальних наукових проектів стало з’являтись у інших наукових напрямках: екологія, орнітологія, кліматологія, морська біологія тощо.

Діяльність таких помічників науковців варіюється від переписування старих лабораторних журналів для оцифрування даних в рамках проекту Old Weather до спостереження і підрахунку птахів в містах або в польових умовах для eBird, від збору даних щодо якості води з плином часу, щоб оцінити стан місцевих вод або допомогти виявити і назвати нові види комах то збору окремих видів безхребетних DrosEU. Такі проекти в розвинутих країнах світу отримують все більшу спонсорську підтримку і є важливими не тільки для розвитку наукових проектів, а і для поширення знань в суспільстві, звертання його уваги на сучасні кліматичні та екологічних проблеми Світу, формування активної громадської позиції і залучення молоді до участі в сучасних наукових дослідженнях.

Зараз спостерігається тенденція залучення у наукові проєкти активних здобувачів освіт загальноосвітніх закладів: шкіл, коледжів, гімназій і ліцеїв. Це сприяє заохоченню дітей шкільного віку до участі у сучасних наукових проектах, які знаходяться на передніх форпостах науки і підвищенню мотивації до вивчення шкільних предметів і оволодінню спеціальною освітою в майбутньому. Україні, на шляху залучення до світової прогресивної спільноти, досить важливо брати участь у таких міжнародних колаборацiях. Саме тому, Одеська Приватна організація (установа, заклад) "Одеський ліцей "Мрія" і кафедра генетики та молекулярної біології Одеського національного університету ім. І. І. Мечникова з задоволенням приєдналась, за запрошенням і рекомендацією Козерецької І. А., до міжнародного соціального проєкту ***Melanogaster: Catch The Fly!*** (#MelanogasterCTF) (https://melanogaster.eu/home/?lang=en). Це перша європейська соціальна наукова мережа по дослідженню адаптацій методами геноміки. Проект пропонує можливість познайомитися з науковою роботою провідних дослідників в цій галузі біології, таких як його засновник - доктор Хосефа Гонсалес (Josefa González) і її команда: Лабораторія еволюційної і функціональної геноміки (González’s Lab)) Інституту еволюційної біології (CSIC-UPF) в Барселоні. Проект реалізується спільно з платформою поширення наукових даних La Ciència Al Teu Món («Наука в вашому світі», LCATM). #MelanogasterCTF пропонує своїм учасникам можливість взаємодії з DrosEU, новаторською науковою міжнародною мережею, до складу якої входить більше ніж 60 лабораторій високого рівня з більш ніж 20 країн Європейського Союзу та решти світу. Мережа громадських і освітніх

організацій проєкту постійно розширюється і в 2020 році Україна теж долучилась до участі в ньому.

Завдяки особистій участі громадян #MelanogasterCTF наближає науку до учнів, студентів і вчителів як з сільських місцевостей так і великих міст, з різних регіонів Іспанії і Європи; при цьому сприяючи просуванню передової науки на міжнародному рівні. Основна мета цього наукового проєкту - зрозуміти, як організми адаптуються до навколишнього середовища. Для цього проводяться дослідження з модельним організмом *Drosophila melanogaster*. Для студентів і викладачів #MelanogasterCTF надає можливість підвищити їх науковий, технологічний потенціал і можливості 4C (collaboration, communication, creativity, critical thinking – співпраця, спілкування, креативність та критичне мислення) за допомогою практичного проєкту, який дає їм можливість виступати в якості агентів і провідників необхідних глобальних змін. У свою чергу, це синергетичний проєкт, який полегшує та прискорює наукові дослідження, оптимізує їх фінансові затрати.

Наукова мета #MelanogasterCTF – пошук генетичних змін, молекулярних механізмів і фенотипових ознак, які залучені у адаптацію організмів до різних умов навколишнього середовища. Розуміння генетичної основи адаптації може дати нам актуальне уявлення для сфер з високим економічним і соціальним значенням, таких як медицина, охорона здоров'я, сільське господарство і зміни клімату. Більш глибоке розуміння кожного з цих питань дає величезний потенціал для досягнення більшого соціального благополуччя. Щоб зрозуміти, як організми адаптуються до навколишнього середовища, необхідно спочатку визначити, що і як змінюється в організмі. З біологічної точки зору це означає визначення того, які гени беруть участь в процесі змін і через які молекулярні механізми вони діють. Для досягнення поставленої наукової мети проєкту необхідно аналізувати організми, які живуть і піддаються впливу різних умов навколишнього середовища, сиквенувати їх геноми і виявляти зміни або мутації.

Учні шкіл в межах даного проєкту збирають плодових мушок з полів та фруктових садів поруч з їх місцерозташуванням, класифікують їх і готують до подальшого наукового аналізу, який включає сиквенування ДНК та подальший біоінформаційний аналіз. У вересні 2020 року, коли Одеська Приватна організація (установа, заклад) "Одеський ліцей "Мрія"

приєдналася до досліджень дрозофіли, учні ліцею виїжджали до виноградників під Одесою, і за допомогою власноруч виговлених ексгаустерів проводили збір матеріалу. Після цього, опрацювання зібраного матеріалу проводили на біологічному факультеті Одеського національного університету, попередньо прослухавши лекцію Ірини Анатоліївни Козерецької, присвячену знайомству з дослідженнями на *Drosophila melanogaster*. Під керівництвом викладачів кафедри генетики та молекулярної біології, доцентів Білоконь С. В. і Алєксєєвої Т. Г. та інженера першої категорії Стрельцової Н. А. школяри познайомилися з зовнішньою будовою мух, навчилися відрізняти *Drosophila melanogaster* від інших видів, розрізняти самців і самок. Після аналізу зібраного матеріалу, мушки поміщалися в 98 % спирт та відправлялись для подальшого генетичного аналізу Х. Гонсалесу в Інститут еволюційної біології в Іспанії. Участь у проекті дала змогу учням не тільки приєднатись до сучасної генетичної науки, а й дала змогу підвищити їх зацікавленість до вивчення генетики, популяційної і молекулярної біології, біоінформатики. Саме тому, ми з радістю плануємо брати і розширювати подальшу участь у даному проекті, а також залучати інші школи і освітні заклади м. Одеси до приєднання до #MelanogasterCTF.

Melanogaster: Catch The Fly! (#MelanogasterCTF) International Civil Project offers the opportunity to work with commercial DrosEU, a pioneering Scientific International Network, which will include more than 60 high-level laboratories from over 20 countries of the European Union and the rest of the world. The main goal of this scientific project is to understand how organisms adapt to the environment using *Drosophila melanogaster* - the classic genetics and molecular biology experimental model organism.

In 2020, the Odessa Private Organization "Odessa Lyceum "Dream" and the teaching staff of the Faculty of Biology, Odessa I. I. Mechnikov National University joined the project, which allowed students to join modern genetic science, and also to increase their interest to studying of genetics, population and molecular biology, bioinformatics.

WOLBACHIA В ПОПУЛЯЦІЇ *DROSOPHILA SIMULANS* ОДЕСИ

С. В. Серга[1,2], О. О. Ціла[1], П. А. Коваленко[3], С. В. Демидов[1], І. А. Козерецька[2]

[1] - *Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна*

[2] - *Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна*

[3] - *Державна установа «Інститут еволюційної екології НАН України», Київ, Україна* ilovebiofack@gmail.com

Вступ

Wolbachia – внутрішньоклітинна ендосимбіотична бактерія, яка передається переважно вертикально та інфікує близько 60% комах. Бактерія широко поширена в популяціях безхребетних завдяки маніпуляціям статевим розмноженням хазяїна або мутуалістичним відносинам (Werren, 1997). Цитоплазматична несумісність – модифікація статевого розмноження під впливом бактерії, яка найбільш часто зустрічається в природі. Вона проявляється у зменшенні кількості ембріонів, які розвиваються, за схрещувань інфікованих самців з неінфікованими самками (Shropshire et al, 2020). Цитоплазматична несумісність надає суттєву перевагу в розмноженні інфікованим самкам, тому забезпечує швидке поширення інфекції в природних популяціях виду-хазяїна (Turelli and Hoffmann, 1991). Саме таке швидке поширення штаму *Wolbachia w*Ri, який викликає високі рівні цитоплазматичної несумісності, було зафіксовано в природних популяціях *Drosophila simulans* Каліфорнії (Turelli and Hoffmann, 1991) та Австралії (Kriesner et al, 2013). При цьому частоти інфікування даним штамом дуже високі – від 90 до 100%. Вважається, що варіанти бактерії, які характеризуються стійкими впливами на репродукцію, повинні еволюціонувати до більш мутуалістичних варіантів (Carrington et al, 2015). Проте, чи відбувається це насправді у природних популяціях, потребує довготривалих досліджень та моніторингу.

Динаміка інфікування природних популяцій *D. simulans* описана в Каліфорнії та Австралії, де даний вид дрозофіли зустрічається досить давно. В цих регіонах показано швидкі заміни варіанту wAu (що не викликає цитоплазматичну несумісність) на wRi (Kriesner et al, 2013). Проте найбільший інтерес представляє динаміка частот інфікованості в популяціях, які колонізують нові місця проживання. Саме в них можлива участь бактерії у

пристосуванні до нових умов існування виду-хазяїна, що може супроводжуватися переходом до більш мутуалістичних взаємовідносин. У 2000х роках нами було встановлено колонізацію *D. simulans* територій України, хоча окремі особини зустрічались і у зборах 90-х (перс. повідомлення Л. Захаренко). При цьому у 2013 частота інфікування природної популяції Одеси складала 100%, і всі особини були інфіковані штамом *w*Ri (Serga et al, 2015). Метою роботи було проаналізувати динаміку частоти інфікування ендосимбіонтом *Wolbachia* природної популяції дрозофіл Одеси.

Об'єкти та методи дослідження

Особин *D. simulans* для аналізу збирали у осінній період (вересень-жовтень) у 2015 та 2018 роках у популяції Одеси (46°29'13.91"N, 30°43'51.59"E). Збір проводили на присадибній ділянці (змішаний сад) Біостанції ОНУ ім. І.І. Мечнікова. Виділення ДНК проводили з 10 особин F1 ізосамкової лінії методом висолювання за стандартним протоколом. Отримані зразки ДНК методом ПЛР перевірялись на наявність бактерії *Wolbachia* з використанням специфічних праймерів до фрагменту 16S рДНК бактерії (O`Neil et al, 1993) та фрагменту гена *wsp* (Zhou et al, 1997). В якості позитивного контролю виділення ДНК використовували реакцію з праймерами, специфічними до гена *CoI* мтДНК дрозофіли (Folmer et al., 1994). Отримані продукти ПЛР фракціонувались за допомогою горизонтального електрофорезу у 2 %-му агарозному гелі в тріс-боратній буферній системі. Лінії вважались інфікованими за позитивної реакції на дві пари праймерів до генів *Wolbachia* та успішної реакції на фрагмент мтДНК дрозофіли. Частота інфікування визначалась як відсоток інфікованих *Wolbachia* ізосамкових ліній.

Результати та обговорення

Частота інфікованості представників природної популяції *D. simulans* Одеси у 2015 році складала 68,7% (11/16), а у 2018 – 85,3% (29/34). Тоді як у зборах 2013 року він сягав 100% (17/17) (Serga et al, 2015). За п'ять років рівень інфікованості став дещо нижчим, проте різниця недостовірна (F, $p>0,05$). Отриманий результат також може бути пов'язаний з тим, що особини 2013 року були саме емігрантами в початкових поколіннях, а 2015 року та 2018 – більш віддалених. Отже, для встановлення реальної картини коливань частоти інфікованості *Wolbachia* представників природної популяції м. Одеса потребуються більш детальні дослідження з

більшими вибірками. Однак, слід зазначити, що *D.simulans* – вид чутливий до стресових чинників, тому дуже важко переводиться в лабораторію, що ускладнює аналіз великої вибірки.

Загалом частота інфікування популяції Одеси співпадає з такими в популяціях Північної Америки, де вона підтримується на рівні близько 93%, та Австралії. Така частота характерна для популяцій інфікованим штамом *w*Ri.

Wolbachia are intracellular endosymbiotic bacteria in arthropods. Rapid spread of the *Wolbachia w*Ri variant, which causes high levels of cytoplasmic incompatibility, has been reported in natural populations of *Drosophila simulans* in California and Australia. Fluctuations in the infection rates are of great interest and are largely unexplored in populations of host species which are colonizing new habitats. We analyzed the frequency of infection in the natural population of *D. simulans* in Odesa during 5 years. During this time the level of infection has slightly decreased, but the difference is insignificant. In general, the incidence of *Wolbachia* in the population of Odesa (Europe), North America and Australia are similar and remain stable over time after spreading.

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ СТЕРОИДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРИРОДЫ НА ДРОЗОФИЛЕ

А. Н. Тарасюк

Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, Брест, Беларусь
tarasiuk01@yandex.ru

Наиболее распространенными и изученными группами стероидных соединений растительной природы являются брассиностероиды (БС) и стероидные гликозиды (СГ). Они уже сейчас находят широкое применение в растениеводстве для стимуляции прорастания семян, клубней и луковиц, интенсификации вегетативного роста, ускорение генеративного развития, увеличения урожайности и повышения качества растениеводческой продукции, а также в селекционном процессе (Хрипач и др., 1993; Шуканов и др., 2012). Вместе с тем, неизученным остаётся вопрос их генетической активности, что может являться сдерживающим фактором для дальнейшего практического использования.

Традиционно под генетической активностью факторов понимают их способность индуцировать мутации (мутагенную активность) (Дубинин, 1976). Однако с развитием экологической генетики всё чаще склоняются к мнению, что не менее важным показателем, характеризующим такую активность, является их способность оказывать влияние на процесс рекомбинации (увеличивать частоту рекомбинации – рекомбиногенная активность, или уменьшать её – антирекомбиногенная активность) (Инге-Вечтомов, 2010). Частота рекомбинации может существенно изменяться под действием различных физических и химических факторов. Так, на различных биологических объектах (дрозофила, саранча, кукуруза, бобы, горох, томаты, лилия, традесканция, сумчатые грибы и др.) показано, что радиация, высокая и низкая температуры, УФ-излучение, а также химические вещества (антибиотики, соли тяжёлых металлов, хелатообразующие вещества, алкилирующие соединения и др.) оказывают влияние на процесс рекомбинации, изменяя её частоту (Дишлер, 1983; Жученко, Король, 1985). Установлено, что эффект зависит от стадии обработки, интенсивности воздействия и исследуемых сегментов хромосом. Показано, что эффективность влияния химических соединений на частоту рекомбинации определяют главным образом следующие факторы: химическая природа и характер биологического действия агента; проникающая способность действующего вещества и концентрация рабочего раствора; локализация соответствующих генов и расстояние между ними на генетической карте хромосомы; способ воздействия (Дишлер, 1983).

Способность частоты рекомбинации претерпевать существенные изменения при действии различных факторов позволяет рассматривать её как чувствительный интегративный показатель для оценки их генетической активности (Тарасюк, 2012). Этим и определялся выбор данного показателя для оценки генетической активности БС и СГ в наших исследованиях.

Оценка влияния стероидных соединений растительной природы на процесс рекомбинации представляет также интерес с точки зрения возможного расширения спектра генотипической изменчивости сельскохозяйственных культур в селекционном процессе (Жученко, Король, 1985). Вовлечение в рекомбинационный процесс тех зон хромосом, где кроссинговер в норме не происходит или происходит с низкой частотой, откроет для селекции громадные, до сих пор не

использованные резервы генотипической изменчивости, что может существенно повысить эффективность селекционного процесса.

Первоначальную оценку генетической активности целесообразно проводить на модельных биологических объектах. Таким удобным объектом является дрозофила (*Drosophila melanogaster* Meig.). Короткий жизненный цикл (12–14 суток), хорошая генетическая изученность, наличие большого количества описанных и картированных мутаций, лёгкость разведения в лабораторных условиях являются важнейшими преимуществами дрозофилы, позволяющими успешно решать разнообразные задачи.

Для оценки генетической активности БС и СГ в качестве исходного материала использовались четыре линии дрозофилы из генетической коллекции кафедры зоологии и генетики Брестского государственного университета имени А.С. Пушкина: три мутантные линии и одна линия дикого типа. Мутантные линии несли по три рецессивных сцепленных гена в хромосомах I, II и III соответственно (всего у дрозофилы четыре хромосомы, однако четвёртая и Y хромосомы очень мелкие, несут единичные гены и редко применяются для проведения исследований).

Мутантные линии характеризовались следующим набором генов:

– линия *y–cut–v,* хромосома I: ген *y (yellow)* – жёлтое тело, локус 0; ген *cut* – обрезанные крылья, локус 20,0; ген *v (vermillion)* – ярко-красные глаза, локус 33,0;

– линия *b–cn–vg,* хромосома II: ген *b (black)* – чёрное тело, локус 48,5; ген *cn (cinnabar)* – киноварные глаза, локус 57,5; ген *vg (vestigial)* – зачаточные крылья, локус 67,0;

– линия *st–ss–e,* хромосома III: ген *sc (scarlet)* – багряно-красные глаза, локус 44,0; ген *ss (spineless)* – укороченные щетинки, локус 58,5; ген *e (ebony)* – чёрное тело, локус 70,7;

В качестве дикого типа использовалась линия *Berlin*, несущая доминантные аллели всех описанных выше генов, определяющие следующие признаки:

– по хромосоме I – y^+ – серое тело, cut^+ – нормальные крылья, v^+ – красные глаза;

– по хромосоме II – b^+ – серое тело, cn^+ – красные глаза, $vg+$ – нормальные крылья;

– по хромосоме III – sc^+ – красные глаза, ss^+ – нормальные щетинки, e^+ – серое тело.

В работе проводилась выборочная оценка генетической активности БС эпибрассинолида, гомобрассинолида, эпикастостерона и СГ никотианозида, мелонгозида, сомелонгозида, рустикозида в трёх концентрациях – $1 \cdot 10^{-6}$ %, $1 \cdot 10^{-7}$ % и $1 \cdot 10^{-8}$ % – на основе учёта частот кроссинговера в хромосомах I–III дрозофилы. В ходе проведения экспериментов мухи выращивались в хладотермостате при температуре 23,5ºС на стандартной питательной среде следующего состава: на 350 мл воды 4,5 г агар-агара, 40 г дрожжей, по 13,5 г сахара и манной крупы. Действующие вещества добавлялись непосредственно в питательную среду в виде растворов с концентрацией, в 10 раз превышающей расчётную, которые смешивались со средой в соотношении 1:10. В контроле в питательную среду добавлялся соответствующий объём дистиллированной воды. Родительские особи (2–3 пары мух) помещались в пенициллиновые флаконы с питательной средой объёмом 5 мл, где происходило скрещивание и развитие потомства. Таким образом, полученные в результате скрещивания гибриды F_1 развивались на питательной среде, содержащей исследуемые вещества. Поэтому весь их жизненный цикл, включая мейоз и процесс рекомбинации, проходили в присутствии исследуемых соединений.

Для гибридных самок F_1 затем проводились анализирующие скрещивания с самцами соответствующих мутантных линий. Полученное от таких скрещиваний потомство (F_A) выращивалось на чистой питательной среде. Опыт проводился в 5 повторностях (по 5 пенициллиновых флаконов с потомством на каждый вариант опыта, включая контроль). Частоты кроссинговера и их стандартные ошибки рассчитывались на основе учёта численности различных фенотипических классов в F_A по общепринятым формулам (Рокицкий, 1978).

Анализ полученных данных о влиянии стероидных соединений на частоту кроссинговера в хромосомах I–III дрозофилы выявил следующие закономерности:

1. В большинстве вариантов опыта исследуемые стероидные соединения не оказывали существенного достоверного влияния на частоту кроссинговера; статистически значимые эффекты отмечены

только для гомобрассинолида (I хромосома, концентрация 10^{-8} %, III хромосома, концентрации 10^{-6} и 10^{-7} %), эпибрассинолида (III хромосома, концентрация 10^{-8} %), никотианозида (III хромосома, концентрация 10^{-7} %), мелонгозида (III хромосома, концентрации 10^{-6} и 10^{-7} %).

2. Характер и величина изменений частоты кроссинговера были различны для разных хромосом: максимальную чувствительность к действию стероидных соединений проявила хромосома III; чёткой зависимости наблюдаемых эффектов от положения сегмента на хромосоме не выявлено.

3. Различные стероидные соединения по-разному влияли на частоту кроссинговера: активность БС в целом была выше активности СГ, что определяется большим числом наблюдаемых достоверных отличий опытных вариантов от контроля; в плане влияния на частоту кроссинговера исследуемые БС можно расположить следующим образом: эпибрассинолид >гомобрассинолид >эпикастостерон.

4. Основным результатом влияния стероидных соединений на частоту кроссинговера явилось снижение данного показателя, как достоверное, так и проявляющееся в виде тенденции; только в одном случае (при действии эпибрассинодида в концентрации 10^{-8} %) зафиксировано достоверное увеличение частоты кроссинговера в дистальном сегменте *spineless–ebony* хромосомы III.

Полученные в результате проведенных исследований данные и их анализ позволяют заключить, что БС эпибрассинолид, гомобрассинолид, эпикастостерон и СГ никотианозид, мелонгозид, сомелонгозид, рустикозид обладают низкой генетической активностью, оцениваемой по степени их влияния на частоту кроссинговера у дрозофилы, и могут допущены к практическому применению. Рекомбиногенное действие этих соединений также невысокое и заключается в основном в снижении частоты кроссинговера, поэтому их использование в селекционном процессе с целью возможного расширения спектра генотипической изменчивости сельскохозяйственных культур не является целесообразным.

Работа выполнена по заданию 3.15 ГПНИ «Химический синтез и продукты», подпрограмма 2.3 «Биорегуляторы растений».

The estimation of the genetic activity of the brassinosteroids epibrassinolide, homobrassinolide, epicastosterone and steroid glycosides nicothianoside, melongoside, somelongoside, rusticoside in three concentrations – $1 \cdot 10^{-6}$ %, $1 \cdot 10^{-7}$ % and $1 \cdot 10^{-8}$ %, based on crossing over frequency changes in chromosomes I – III of drosophila, was conducted. It was found that the compounds under study have low genetic activity, and the effect of their action is mainly in a slight decrease in the frequency of crossing over.

КЛІНАЛЬНІСТЬ ЧАСТОТ ВАРІАНТІВ ГЕНІВ РЕПАРАЦІЇ ДНК У ПОПУЛЯЦІЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЄВРОПИ

І. С. Терпило[1,2], С. В. Серга[1,2,3], О. М. Майстренко[2,4], І. А. Козерецька[2,3]

[1] - *Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна*
[2] - *European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)*
[3] - *Національний антарктичний науковий центр, Київ, Україна*
[4] - *Royal Netherlands Institute for Sea Research, 't Horntje (Texel), Netherlands*

Вступ

Результати досліджень з популяційної геноміки *Drosophila melanogaster* продемонстрували, що клітинні процеси можуть зазнавати впливу просторового відбору за градієнтом географічних координат (Kapun et al, 2016). Чи відносяться до цих процесів механізми репарації ДНК, і як саме це може впливати на реальні рівні мутацій у популяціях, достеменно невідомо. Утім, у роботі Тернера зі співавторами (Terner at al, 2008) повідомляється, що кілька генів, асоційованих з репарацією ДНК, мають однонуклеотидні поліморфізми, які зустрічаються з різними частотами в популяціях з різних широт в Австралії та Сполучених Штатах Америки. Крім того, чутливість ембріонів дрозофіли до УФ корелює з широтою збору мух з природних популяцій Північної Америки (Svetec et al, 2016), що може свідчити про наявність адаптивних клінів генів відповіді на УФ-випромінювання в тому числі. Методи повногеномного сиквенування надають можливість проаналізувати вищезгадані потенційні клінальні ефекти. Метою дослідження був пошук можливої кореляції між частотами поліморфних варіантів в генах *D. melanogaster*, відповідальних за сигналінг пошкодження ДНК, репарацію ДНК або антиоксидантну

активність, і географічними координатами в природних популяціях дрозофіл Європи.

Об'єкти та методи дослідження

Усі послідовності ДНК у форматі VCF було отримано шляхом повногеномного сиквенування в рамках проекту Європейського консорціуму з популяційної геноміки дрозофіл (*DrosEU*; https://droseu.net), який люб'язно надав файли для аналізу (Kapun et al, 2020). Дані охоплювали 48 відсеквенованих зразків з 32 європейських популяцій. Отриманий VCF файл було анотовано за допомогою програмного застосунку SNPEff (Cingolani et al, 2012). Для полегшення апаратного обчислення за допомогою програми SnpSift, VCF файл було розділено на 6 частин за приналежністю до хромосом чи їх складових - 2L, 2R, 3L, 3R, X, 4. Для обрахунку кореляції рівнів мутацій в сайтах геному із географічною довготою був використаний метод лінійних регресій (y~lat) за допомогою мови програмування R v. 3.6.3 (Chan, 2018) у середовищі RStudio. В якості показника кореляції використовували R-квадрат з лінійних моделей. Для корекції отриманих p-значень на множинне порівняння був застосований метод Хольма (Holm, 1978). Отримані результати автоматично записувались у файли формату CSV. Приналежність сайтів до тих чи інших генів було з'ясовано, застосовуючи мову програмування Python (Perkel, 2015). Інформацію про білок-білкові взаємодії продуктів експресії отриманих генів отримували за допомогою бази даних та веб-ресурсу STRING (von Mering et al, 2003).

Результати та обговорення

При проведенні аналізу на меті стояв пошук генів, яким притаманні однонуклеотидні поліморфізми із коефіцієнтом детермінації не менше 0.1 при рівні статистичної значущості p <= 0.05. Коефіцієнт детермінації лінійної регресії (R-квадрат) використовувався в якості метрики кореляції. Крім цього, необхідно було з'ясувати, чи є серед з'ясованих генів такі, які пов'язані з репарацією ДНК. В результаті було ідентифіковано 19 однонуклеотидних поліморфізмів із мінімальним коефіцієнтом детермінації по географічній довготі 0.59. Жодної поясненої дисперсії, передбаченої географічною широтою чи висотою над рівнем моря, детектовано не було. Знайдені поліморфізми належали наступним генам: *CG4164, CG4496, CG3262, Thd1, Sox102F, CG11148, CG3071, tlk, CG42541, CG15721, Sh, CG14205, CG43168, CG31016.*

Серед перерахованих генів CG31016 відзначився найбільшою кількістю корельованих SNP - 4. Даний ген мало вивчений; ймовірно бере участь у проколаген-пролін-4-диоксигеназній активності. Серед ідентифікованих генів *Thd1* (Thymine DNA glycosylase) характеризується активністю стосовно репарації ДНК. STRING показав зв'язок між *Thd1* та *CG11148* із показником коекспресії РНК у 0.615. CG11148 бере участь у підтриманні гомеостазу в м'язевих та нервових клітинах, а також контролює автофагію (Kim et al, 2015). *Thd1*, який також відомий як *Tdg*, кодує тимін-ДНК-глікозилазу, яка вирізає тимін та урацил з місметчів Г/Т та Г/У відповідно. Вважається, що саме цей ген відіграє центральну роль у клітинному захисті від мутацій, які виникають внаслідок спонтанного дезамінування 5-метилцитозину та цитозину (Hardeland et al, 2003). У дрозофіли даний ген експресується у дорсальному м'язі глотки та м'язевій системі лялечки. Коефіцієнт детермінації у *Thd1* сягнув 0.63 у зразках літніх популяцій та 0.68 - в осінніх. Враховуючи наші результати, можна стверджувати, що мінливість гена *Thd1*, відповідального за репарацію ДНК, є адаптивною та підлягає просторовому відбору, а саме - довготній клінальності. Варто зауважити, що для генів репарації досі була встановлена лише широтна клінальність для *D. melanogaster* (Svetec et al, 2016; Terner et al, 2008), що відрізняється від результату нашого дослідження та пояснюється особливостями клімату Європи.

In this study we assessed how spatial selection in the form of longitudinal cline impacts genetic variation of genes involved in DNA repair. We analyzed genomic data of 48 *D. melanogaster* European populations using linear regression models to investigate association between single nucleotide polymorphisms and latitude. We identified 14 genes that have latitudinal clinal variation. Among them only Thd1 shows DNA repair activity. This gene is a thymine-DNA glycosylase that excises thymine and uracil from G·T and G·U mismatches, respectively. Coefficient of determination for association with latitude in the linear model for Thd1 was 0.63-0.68. Thus, we speculate that there is a relation between latitude and DNA repair processes in *D. melanogaster*.

ЧУТЛИВІСТЬ ДО ТРИКРЕЗИЛФОСФАТУ ОСОБИН *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЗА КЕРОВАНОЇ НАДЕКСПРЕСІЇ ПОСЛІДОВНОСТЕЙ ОКРЕМИХ ДОМЕНІВ БІЛКА SWS

М-М. Р. Ткачук, Н. П. Матійців

Львівський національний університет імені Івана Франка, кафедра генетики та біотехнології, м. Львів, Україна

nataliya.matiytsiv@lnu.edu.ua, MartaTkachuk@ukr.net

Вступ

Нейротоксична естераза (NTE) ссавців − трансмембранний білок ендоплазматичного ретикулуму, серинова естераза, що володіє активністю фосфоліпази В, задіяна у регулюванні метаболізму фосфатидилхоліну та лізофосфатидилхоліну клітинних мембран (Kienesberger et al., 2009). Синдром відтермінованої нейропатії (OPIDN) виникає внаслідок порушення функції нейротоксичної естерази після впливу певних фосфорорганічних сполук, що входять до складу пестицидів, антипіренів, лаків та пластифікаторів. OPIDN розвивається поступово, перші симптоми проявляються на 8-14 день після однократної, достатньо високої дози органофосфатів. Захворювання супроводжується дистальною дегенерацією аксонів центральної та периферичної нервової системи, прогресивною слабкістю, патологічними рефлексами та паралічем нижніх кінцівок (Glynn, 2006). Відомі мутації гена нейротоксичної естерази (NTE) людини, охоплюють чотири основні типи нейродегенеративних захворювань: атаксію, хоріоретинальну дистрофію, гіпогонадотропний гіпогонадизм та захворювання моторних нейронів (Synofzik et al., 2014). Гомологом та функціональним ортологом гена NTE є ген *sws (swiss cheese) D. melanogaster*. Попередні дослідження показали, що у мух за впливу трикрезилфосфату розвиваються поведінкові розлади та нейродегенерація (Wentzell et al., 2014). Мутанти *sws* також характеризуються прогресуючою дегенерацією нервової системи, аналогічною до хворих людей, це супроводжується гліальним гіперогортанням і апоптозом нейронів (Kretzschmar et al., 1997). У SWS/NTE наявні чотири основні домени: три нуклеотидзв'язуючі та один естеразний домен, який розщеплює фосфорорганічні сполуки. Дослідження впливу органофосфатів за умови надекспресії окремих доменів білка SWS у різних тканинах є доцільним для з’ясування ролі цих

доменів у розвитку нейропатій, як індукованих фосфоорганічними сполуками (OPIDN), так і спричинених мутаціями.

Нашим завданням було дослідити чутливість особин *D. melanogaster* до трикрезилфосфату за керованої надекспресії послідовностей окремих доменів білка SWS. Зокрема, за надекспресії нуклеотидзв'язуючих доменів та естеразного домену у місцях експресії *sws*, у нейронах та глії.

Об'єкти та методи дослідження

Дослідження проведено із застосуванням *UAS-Gal4*-бінарної системи. Вихідними лініями слугували лінії з надекспресією естеразного домену білка SWS під UAS контролем (*UAS-sws-ESTD)* та нуклеотидзв'язуючих доменів під UAS контролем *(UAS-sws-NBD).* Для надекспресії в нейронах використали драйверну лінію *elav-Gal4*, у глії – *repo-Gal4*, для надекспресії в місцях, де експресується ген *sws* − *sws-Gal4*. Проводили схрещування віргінних самок цих ліній з самцями *UAS-sws-NBD* та *UAS-sws-ESTD*. В першому поколінні отримали потомків, що поєднали у генотипі *UAS* та *GAL4* послідовності, серед яких відбирали самців.

Дослідження чутливості мух до дії органофосфату полягало у згодовуванні їм 32 мг/мл розчину трикрезилфосфату, який є однією з нейропатій індукуючих фосфорорганічних сполук. Його додавали до 10% розчину сахарози та 1% розчину дріжджового екстракту. Згодовування тривало добу і здійснювалось на агарозному середовищі. 5-денних самців розсаджували в пробірки по 10 особин. Досліджували особини кожного генотипу у десяти повторах. 10% розчин сахарози та 1% розчин дріжджового екстракту слугував в якості контрольного середовища. Після доби згодовування мух пересаджували на стандартне середовище і пересипали кожного дня протягом 14 діб. Проводили підрахунок мертвих мух на 2, 7 та 14 день після згодовування. Аналіз фенотипу мозку було здійснено на рівні гістологічних зрізів, які розглядали на мікроскопі із використанням флюорисцентного світла. Статистичну обробку результатів здійснено за допомогою GraphPad Prism 8. Достовірність отриманих результатів перевіряли за допомогою Log-rank тесту.

Результати та обговорення

За результатами дослідів встановлено токсичну дію трикрезилфосфату у концентрації 32мг/мл на контрольних особин лінії *Oregon R.* А саме, зниження відсотка виживання дослідних мух спостерігали лише на 14-й день

після впливу трикрезилфосфату, що свідчить про відтермінований ефект дії сполуки ($p < 0.001$(***)). Надекспресія нуклеотидзв'язуючих доменів та естеразного домену у місцях експресії *sws* за впливу трикрезилфосфату також зумовлює зменшення відсотка виживання мух в порівнянні зі стандартним середовищем. Так, в особин з додатковою копією нуклеотидзв'язуючих доменів (*UAS-sws-NBD/sws-Gal4*), що перебували на контрольному середовищі на 14 день відсоток виживання становив 89%, у той час як після згодовування органофосфату знижувався до 52% ($p < 0.001$(***)). У мух з надекспресією естеразного домену значне зниження виживання було зафіксовано на 7 та 14 день після впливу сполуки, а саме 80% та 41% відповідно. На контрольному середовищі показники знизились лише до 98% на 14 день ($p < 0.001$(***)). Особини з надекспресією доменів у глії також показали зменшення відсотка виживання, порівняно з контролем: за надекспресії нуклеотидзв'язуючих доменів ($p = 0{,}0099$(**)) та за надекспресії естеразного домену ($p < 0.0001$(****)). Надекспресія у нейронах нуклеотидзв'язуючих доменів також зумовлює чутливість до трикрезилфосфату(p = 0,0028(**)), проте особини із надекспресією послідовності естеразного домену (*UAS-sws-ESTD/elav-Gal4*) виявляють стійкість до дії сполуки.

Аналізуючи вплив трикрезилфосфату на структуру мозку за надекспресії нуклеотидзв'язуючого та естеразного доменів SWS, виявлений фенотип, що проявляється у дегенерації тканини в ділянці ламінарної глії – на межі між ретиною та ламіною. Контрольні особини з надекспресією доменів, яких не піддавали впливу органофосфату не мали дегенеративного фенотипу. Дегенерацію за впливу трикрезилфосфату фіксували і при надекспресії доменів в глії, і у місцях експресії *sws*, а також за надекспресії нуклеотидзв'язуючого домену в нейронах. Проте подібних зон дегенерації не було виявлено за надекспресії естеразного домену в нейронах.

Отже, нами встановлено, що трикрезилфосфат спричиняє токсичний ефект як за надекспресії нуклеотидзв'язуючих, так і естеразного доменів білка SWS у глії та місцях експресії *sws*. Токсичний ефект, що проявлявся у зниженні відсотка виживання та дегенеративній зміні структур мозку спостерігали і за експресії додаткової копії нуклеотидзв'язуючих доменів у нейронах. Натомість додаткова копія естеразного домену у нейронах

зумовлює стійкість особин до дії трикрезилфосфату, що підтвердилось також відсутністю дегенеративних змін у структурі мозку.

The *swiss cheese* (*sws*) is *Drosophila* orthologue of Neuropathy Target Esterase (NTE) of mammals. Inhibition of NTE with certain organophosphorus (OP) compounds produces OP-induced delayed neuropathy (OPIDN), a distal degeneration of axons in the central and peripheral nervous system, thereby providing a model for studying a spectrum of neurodegenerative diseases. The *Drosophila sws* mutants are characterized by progressive degeneration of adult nervous system, glial hyperwrapping and neuronal apoptosis. We studied effects of a tricresyl phosphate on adult *D. melanogaster* flies with overexpression of esterase (EST) and nucleotide binding domains (NBDs) in neurons, glia and in places of its expression using the *Gal4-UAS* system. It has been shown that the flies with overexpression of esterase domain (EST) in neurons are resistant to organophosphate.

VALIDATION OF GWAS-DERIVED CANDIDATE GENES ASSOCIATED WITH LOW BONE MINERAL DENSITY USING ZEBRAFISH (*DANIO RERIO*) MODEL

I. Khrystoforova, C. Shochat-Carvalho, D. Karasik
Bar-Ilan University, Azrieli Faculty of Medicine, Safed, Israel

Skeletal system is one of the first systems in human organism which undergoes changes, by age-related processes. Together with increasing life expectancy the range of wide-spread skeletal disorders tends to raise, such as osteoporosis, osteogenic imperfecta etc. Nowadays, genome-wide association study (GWAS) in humans for bone mineral density identified a lot of novel genes with unknown functions in bone. Validation of the role of these novel GWAS-derived genes is required in order to make a bridge between in-silico discoveries and application for improving human life quality.

Like humans, zebrafish (*Danio rerio*) skeleton forms either by using cartilage scaffold as a template, or directly (without cartilage scaffold), by intramembranous ossification. Importantly, genetic determinants that control bone formation are highly conserved between zebrafish and mammals.

Advanced genome editing technologies such as CRISPR-Cas9 allow the further validation of novel regulators in animal model, such as zebrafish. Therefore, the goal of our research is to find novel genes associated with skeletal diseases, based on human GWAS data, using zebrafish model.

С60 РОЗКРИВАЄ СВОЇ ТАЄМНИЦІ

Я. А. Ясінський[1], О. О. Проценко[1,2], О. А. Майстренко[4], В. К. Рибальченко[1], Ю. І. Прилуцький[1], Е. Таушер[3], У. Риттер[3], І. А. Козерецька[2]

[1] - Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна

[2] - Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОЗ України, Київ, Україна

[3] - Technical University of Ilmenau, Institute of Chemistry and Biotechnology, Weimarer St. 25, 98693, Ilmenau, Germany

[4] - Royal Netherlands Institute for Sea Research, Тесел, Нідерланди

protsenko.olexandra@gmail.com

Вступ

Фулерени - одна з кількох алотропних модифікацій Карбону. Вони широко застосовуються в різних галузях промисловості в тому числі в косметології та медицині (Думпис, 2018,). Відомо, що фулерени спричиняють пошкодження ДНК (Shearer, 2017), в той же час впливу на дрозофілу не встановлено (Zakharenko, 1997). З'ясуванню причин таких розбіжностей була присвячена дана робота.

Об'єкти та методи дослідження

Поживне середовище

До 4 мл стандартного поживного середовища додавали гідратований фулерен С60 у концентрації 0,15 мг / мл (Ashburner, 2005). Робоча концентрація фулерену становить 0,02 мг / мл і 0,04 мг / мл.

В якості негативного контролю використовували стандартне поживне середовище. Як позитивний контроль - стандартне середовище з додаванням циклофосфаміду в концентрації 0,2мг/мл.

Оцінка токсичності

Для дослідження токсичності препарату ми визначили його вплив на виживаність, час розвитку та фертильність (кількість особин імаго у F_1) мух Oregon R, вирощених на середовищі з додаванням фулерену С60 та

без нього. Статистичну достовірність розраховували за допомогою F-критерію Фішера.

Виживання оцінювали за кількістю мух Oregon R (R) на 10 -й день після посадки на середовище з досліджуваною речовиною.

Оцінка генотоксичності

Для виявлення можливого генотоксичного ефекту на фенотиповому рівні використовували тест на репарацію ДНК з фенотипиповим проявом (тест на репарацію ДНК) (Fujikawa, 1993). Схрещували вергних самок mei-9a mei-41D5 / FM7c;mwh з самцями лінії Oregon R. Схрещування проводили безпосередньо в пробірках з експериментальним середовищем, і весь життєвий цикл мух наступного покоління проходив на досліджуваному середовищі. Аналізували F1 за наступними фенотиповими класами:

1) самки з червоними очима з нормальною кількістю фасеток або зменшеною кількістю фасеток (Bar) (F));

2) самці з дефектом у системі репарації ДНК, мають жовті округлі очі (M1),

3) самці з системою репарації дикого типу, з білими очима (M2).

Виживання кожного класу мух оцінювали як відносну кількість мух у дослідній культурі до значень, отриманих у контрольних умовах. Вважається, що досліджувана речовина має мутагенні властивості, коли коефіцієнт співвідношення особин зазначених класів, m1 / f та m1 / m2, становить менше 0,1 та 1 відповідно. Для аналізу отриманих результатів використовували дисперсійний аналіз.

Для ідентифікації можливого генотоксичного ефекту на молекулярному рівні використовували тест на репарацію ДНК з використанням лінії y [1] w [67c23]; P {w [+ mC] = lacW} mus209 [k00704] / CyO (10361) *D. melanogaster* (Yasinskiy Y., 2016). Мух культивували на живильному середовищі з концентраціями, зазначеними вище. Досліджували слинні залози личинок третього віку плодової мухи. Гістохімічне забарвлення для репортерної активності LacZ проводили наступним чином: слинні залози личинок виділяли у розчині Хенка та інкубували у 0,75% -вому глутаральдегідному фіксаторі, який готували з використанням 0,1 М какодилатного буфера натрію. Залози промивали в PBS (130 мMNaCl, 7 мМ Na2HPO4 · H2O, 3 мМ NaH2PO4 · 2H2O, pH 7,0).

Після цього їх поміщали в розчин (10 мMNaCl, 1 мМ MgCl2 · 6H2O, 0,3% Тритон X-100, 3,1 мМ K4 [FeII (CN6), 3,1 мМ K3 [FeIII (CN6), 2% X-gal)) для фарбування.

Оцінка стану репродуктивної системи

Вплив С60 на репродуктивну систему *D. melanogaster* визначали шляхом оцінки кількості оваріол у самок, які розвивалися на середовищі з досліджуваними речовинами. Для цього на досліджуване середовище висаджували одну самку та одного самця *D. melanogaster*. Особини першого покоління поміщали в окремі пробірки. Оцінювали розвиток оваріол (кількість яєць у кожному оварії) у самок у віці 5 днів. Для статистичного аналізу використовували тест HSD Tukey.

Результати та обговорення

Не встановлено жодного впливу фулерену С60 на виживання мух за концентрації 40 мкг/мл. Виживання мух, як на середовищі з фулереном С60 так і в контролі, становила 100%. Середня виживаність становила 25,5 особин на пробірку і 23,8 особини на пробірку в умовах контролю. Це вказує на відсутність токсичних ефектів для цих речовин у випробуваних концентраціях.

Співвідношення в F_1 кількості нормальних самок (F) до кількості самців з порушенням системи репарації (M1), а також кількості самців з порушенням системи репарації (M1) до кількості нормальних самців (M2). засвідчило що співвідношення M1/ F було більше 1, а M1/M2 більше 0,1, що відповідно до методики демонструє відсутність мутагенної дії фулеренів у конценрації 40 мкг/мл.

Вплив фулерену С60 на відновлення ДНК на молекулярному рівні в умовах контролю оцінювали за пофарбуванням ядер. Фарбування ядер синім кольором означало активацію гена–репортера бета-галактозидази, яка перетворює безбарвний субстрат X-gal в яскраво –синьо забарвлений, що в свою чергу свідчить про активацію гена –репортера функціонування енхансерної пастки, поруч з якою знаходиться ген mus209. Відсутність забарвлення ядер свідчить про відсутність індуктивної активності гена mus209, яка призводить до активації P {LacZ}.

Коли личинки вирощувались з фулереном С60 у клітинах слинних залоз, виявлено синє забарвлення, що вказує на активність бета-галактозидази. Наявність продуктів гена бетагалактозидази є наслідком

активності гена mus209, що свідчить про активацію індуктивної системи репарації при контакті клітин з фулереном.

Що стосується репродуктивної системи то відомо, що для дрозофіли характерно зниження функції репродуктивної системи, а саме зменшення кількості оваріол в оваріях, у випадку зустрічі з негативними факторами зовнішнього середовища (Boultreau-Merle, 1982). Тому нами було оцінено кількість оваріол в оваріях самок дрозофіли лінії Oregon-R, які виросли на середовищі з додаванням та без додавання фуллерену. Не було показано різниці між кількістю оваріол у самок дослідної та контрольної груп.

Отже, у поточному дослідженні нами показано, що: водорозчинний фуллерен С60 у концентрації 20 мкг/мл і 40 мкг/мл призводить до активації гена mus209 в слинних залозах личинок *D. melanogaster*, що є наслідком пошкодження ДНК та подальшої активації індуктивної системи репарації. Саме цей процес забезпечує репарацію пошкоджень ДНК (викликаних не тільки суто С60 (Афанасьева та ін., 2015)) з подальшою відсутністю їх фенотипової маніфестації.

Fullerenes have attracted attention since their discovery as structural units of complex carbon nanostructures capable of transporting drugs and macromolecules. As such artificial nanomaterials are applied in biology and medicine, they are routinely scrutinized for their effects on living organisms. The results of such studies range from direct destabilizing effects on DNA molecules to amelioration of the toxic effects of known genotoxic agents. We tested the effect of buckminsterfullerene (C60) on *Drosophila melanogaster* at DNA, tissue and organism levels. The water-soluble pristine C60 fullerene at the concentration 40 μg/ml leads to the activation of the mus209 gene in *D. melanogaster* larvae salivary glands, which can indicate higher levels of DNA damage. However, the absence of effects at the cell and organismal level could be explained by the activation of repair systems or by active elimination of damaged cells.

Зміст / Content

Алєксєєва Т. Г., Білоконь С. В., Нестеркіна М. В., Кравченко І. А., Черкасова Т. О. **Структурно-функціональні особливості клітин слинних залоз *Drosophila melanogaster* під впливом монотерпенів**
T. Alieksieieva, S. Bilokon, M. Nesterkina, I. Kravchenko, T. Cherkasova. **Structural and functional features of *Drosophila melanogaster* salivary gland cells under the influence of monoterpenes** 9

Білоконь С. В., Алєксєєва Т. Г., Нестеркіна М. В., Кравченко І. А. **Показники пристосованості комах і генотоксичний ефект монотерпенів у біотестуванні на *Drosophila melanogaster***
S. Bilokon, T. Alieksieieva, M. Nesterkina, I. Kravchenko. **Indicators of flies fitness and estimation of monoterpenes genotoxic effect in biotesting on *Drosophila melanogaster*** 13

Чернобай Н. І., Волкова Н. Є. **Мінливість показників статевої поведінки *Drosophila melanogaster* в залежності від генотипу та за умов споживання домішки β-аланіну**
N. Chernobai, N. Volkova. **Genotype dependent effects of dietary β - alanine on mating behavior indexes of *Drosophila melanogaster*** 17

Горенская О. В., Титова А. А. **Нестероидные противовоспалительные препараты модифицируют проявление адаптивно значимых признаков у дрозофилы** 20
O. Gorenskaya, A. Titova. **Non-steroid anti-inflammatory drugs modify the manifestation adaptive traits in *Drosophila***

Горенская О. В., Пасякова М. В., Евгеньев М. Б. **Роль генов белков теплового шоке в контроле приспособленности у дрозофилы**
O. Gorenskaya, M. Pasyakova, M. Evgen’ev. **The role of heat shock protein genes in control of fitness in *Drosophila*** 24

Городецька Є. В. **Огляд молекулярних методів: застосування для досліджень дрозофіли**
Ie. Gorodetska. **The outlook of molecular methods: implication for *Drosophila* research** 28

Грубіян Н. О., Серга С. В., Майстренко О. М., Козерецька І. А. **Можливі шляхи походження *Drosophila simulans* України** 31

N. Hrubiian, S. Serga, O. Maistrenko, I. Kozeretska**. Origins of *Drosophila simulans* in Ukraine**

Коваленко П. А., Серга С. В., Проценко О. В., Гора Н. В., Сьлєнзак-Парнікоза А., Зінченко М. Ю., Войцеховський К., Козерецька І.А. **Drosophilidae України та Польщі (збори 2019 року)** 33

P. Kovalenko. S. Serga, O. Protsenko, N. Gora, A. Ślęzak-Parnikoza, M. Zinchenko, K. Wojciechowski, I. Kozeretska. **Drosophilidae of Ukraine and Poland (sample collection of the 2019 year)**

Коваленко П. А., Серга С. В., Горобчишин В. А., Козерецька І. А. **Не дрозофілою єдиною: *Belgica antarctica* – модельний організм для вивчення механізмів пристосування до глобальних змін клімату** 36

P. Kovalenko, S. Serga, V. Gorobchyshyn, I. Kozeretska. **Not the only Drosophila: *Belgica antarctica* – a model organism for study of mechanisms of adaptations to global climate changes**

Ковалевич Н. Ф., Страпко С. И. **Особенности флуктуирующей асимметрии количественных признаков *Drosophila melanogaster* из природных популяций Брестской области** 40

N. Kovalevich, S. Strapko. **Features fluctuating asymmetry of quantitative traits *Drosophila melanogaster* from natural populations of Brest region**

Кошель Н. М., Мехова Л. В., Иванов С. Г., Писарук А. В. **Вплив pH їжі на личинковій стадії на тривалість життя імаго дрозофіл** 43

N. Koshel, L. Mekhova, S. Ivanov, A. Pisaruk. **Influence of food pH on larval stage on duration of life adult *D. melanogaster***

Майстренко О. М., Гейченко М. Т., Гора Н. В., Серга С. В., Козерецька І. А. **Геноміка симбіозу** 46

O. Maistrenko, M. Heichenko, N. Gora, S. Serga, I. Kozeretska. **Genomics of symbiosis**

Навроцька В. В., Орлова А. В. **Вплив генетичного і фармакологічного пригнічення триптофан-кінуренінового шляху на локомоторну активність імаго *Drosophila melanogaster*** 47

Navrotska V. V., Orlova A. V. **The influence of genetic and pharmacological inhibition of tryptophan-kynurenine pathway on the locomotor activity of *Drosophila melanogaster* imago**

Новосядла З. М, Бондарчук О. В., Гавришкевич Х. М., Черник Я. І., Матійців Н. П. **Вплив спермідину на прояви нейродегенерацій у** 52

мутантів *Drosophila melanogaster* за генами *Sod*[1] та *sws*[1]

Z. Novosiadla, O. Bondarchuk, Kr. Havrishkevich, Ya. Chernyk, N. Matiytsiv. **The effect of spermidine on the manifestations of neurodegenerations of *Sod*[1]- and *sws*[1] - mutants of *Drosophila melanogaster***

Радіонов Д. Б., Білоконь С. В., Алєксєєва Т. Г., Козерецька І. А. **Участь України в міжнародному цивільному науковому проекті** *MELANOGASTER: CATCH THE FLY!* **(#MelanogasterCTF)** 56

D. Radionov, S. Bilokon, T. Alieksieieva, I. Kozeretska. **International civil scientific project *MELANOGASTER: CATCH THE FLY*! (#MelanogasterCTF): participation of Ukraine**

Серга С. В., Ціла О. О., Коваленко П. А., Демидов С. В., Козерецька І. А. ***Wolbachia* в популяції *Drosophila simulans* Одеси** 60

S. Serga, O. Tsila, P. Kovalenko, S. Demydov., I. Kozeretska. ***Wolbachia* in *Drosophila simulans* natural population from Odesa**

Тарасюк А. Н. **Оценка генетической активности стероидных соединений растительной природы на дрозофиле** 62

A. Tarasiuk. **Estimation of genetic activity of plant origin steroid compounds on drosophila**

Терпило І. С., Серга С. В., Майстренко О. М., Козерецька І. А. **Клінальність частот варіантів генів репарації ДНК у популяціях *Drosophila melanogaster* Європи** 67

I. Terpylo, S. Serga, O. Maistrenko, I. Kozeretska. **Clinal variation of allele frequencies in DNA repair genes in European populations of Drosophila melanogaster**

Ткачук М-М. Р., Матійців Н. П. **Чутливість до трикрезилфосфату особин *Drosophila melanogaster* за керованої надекспресії послідовностей окремих доменів білка SWS** 70

M.-M. Tkachuk, N. Matiytsiv. **Exposure to tricresyl phosphate on *Drosophila melanogaster* flies with SWS domains overexpression**

Христофорова І. О., Шохат-Кавало Х., Карасік Д**. Валідація генів-кандидатів асоційованих з мінеральною щільністю кісток, з використанням моделі даніо (*Danio rerio*)** 73

Khrystoforova I., Shochat-Carvalho C., Karasik D. **Validation of gwas-derived candidate genes associated with low bone mineral density using zebrafish (*Danio rerio*) model**

Ясінський Я. А., Проценко О. О., Майстренко О. А., Рибальченко В. К., Прилуцький Ю. І., Tauscher E., Ritter U., Козерецька І. А. **С60 розкриває свої таємниці**

Y. Yasinskyi, O. Protsenko, O. Maistrenko, V Rybalchenko., Yu. Prylutskyy, E. Tauscher, U. Ritter, I. Kozeretska. **Reconciling the controversial data on the effects of C60 fullerene at the organismal and molecular levels using as a model *Drosophila melanogaster*** 74

Авторський покажчик
List of authors

Автор	Установа	Сторінка
Алєксєєва Т. Г. T. Alieksieieva	Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна	9, 13, 56
Білоконь С. В. S. Bilokon	Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна	9, 13, 56
Бондарчук О. В. O. Bondarchuk	Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна	52
Волкова Н. Є. N. Volkova	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харків, Україна	17
Войцеховський К. K. Wojciechowski	Administration of Regional landscape parks of Lublin Vojevodship, Lublin, Poland	33
Демидов С.В. S. Demydov	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	60
Гаврішкевич Х. М. Kr. Havrishkevich	Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна	52
Гейченко М. Т. M. Heichenko	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	46
Гора Н. В. Gora N. V.	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	33, 46
Горенская О. В. O. Gorenskaya	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина	20, 24
Горобчишин В.А. V. Gorobchyshyn	Державна установа «Інститут еволюційної екології НАН України», Київ, Україна Київський національний університет імені	36

	Тараса Шевченка, Київ, Україна	
Городецька Є. В. Ie. Gorodetska	OncoRay – National Center for Radiation Research in Oncology, Faculty of Medicine and University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden, Dresde, Germany	28
Грубіян Н.О. N. Hrubiian	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	31
Евгеньев М. Б. M. Evgen'ev	Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия	24
Зінченко М. Ю. M. Zinchenko	Східноєвропейський національний університет імені Лесі Українки, Луцьк, Україна	33
Іванов С. Г. S. Ivanov	Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Киев, Україна	43
Карасік Д. D. Karasik	Bar-Ilan University, Azrieli Faculty of Medicine, Safed, Israel	73
Ковалевич Н. Ф. N. Kovalevich	Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, г. Брест, Беларусь	40
Коваленко П. А. P. Kovalenko	Державна установа «Інститут еволюційної екології НАН України», Київ, Україна	33,36, 60
Козерецька І. А. I. Kozeretska	Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU) Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	31, 33, 36, 46, 56, 60, 67, 74
Кошель Н. М. N. Koshel	Державна Установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Киев, Україна	43
Кравченко І. А. I. Kravchenko	Державний університет «Одеська політехника», Одеса, Україна	9, 13
Матійців Н. П	Львівський національний університет імені	52, 70

N. Matiytsiv	Івана Франка, м. Львів, Україна	
Майстренко О. М. O. Maistrenko	Royal Netherlands Institute for Sea Research, 't Horntje (Texel), Netherlands European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)	31, 46, 67, 74
Мехова Л. В. L. Mekhova	Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Киев, Україна	43
Навроцька В. В. V. Navrotska	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харків, Україна	47
Нестеркіна М. В. M. Nesterkina	Державний університет «Одеська політехника», Одеса, Україна	9, 13
Новосядла З. М. Z. Novosiadla	Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна	52
Орлова А. В. A. Orlova	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харків, Україна	47
Пасякова М. В. M. Pasyakova	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харків, Україна	24
Писарук А. В. A. Pisaruk	Державна установа «Інститут геронтології ім. Д. Ф. Чеботарьова НАМН України», Киев, Україна	43
Прилуцький Ю.І. Yu. Prylutskyy	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	74
Проценко О. О . O. Protsenko	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна	33, 74
Радіонов Д. Б. D. Radionov	Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна Приватна організація "Одеський ліцей "Мрія", Одеса, Україна	56
Ріттер У. Ritter U.	Technical University of Ilmenau, Institute of Chemistry and Biotechnology, Weimarer St. 25, 98693, Ilmenau, Germany	74

Рибальченко В.К. V. Rybalchenko	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	74
Серга С. В. S. Serga	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна Державна установа Національний антарктичний науковий центр МОН України, Київ, Україна European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)	31, 33, 36, 46, 60, 67
Страпко С. И. S. Strapko	Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, г. Брест, Беларусь,	40
Сьлєнзак-Парнікоза А. A. Ślęzak-Parnikoza	Local group for wolf protection on Elbląg Upland, Elbląg, Poland	33
Тарасюк А. Н. A. Tarasiuk	Брестский государственный университет имени А.С. Пушкина, Брест, Беларусь	62
Таушер Е. E. Tauscher	Technical University of Ilmenau, Institute of Chemistry and Biotechnology, Weimarer St. 25, 98693, Ilmenau, Germany	74
Терпило І. С. I. Terpylo	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна European Drosophila Population Genomics Consortium (DrosEU)	67
Титова А.А. A. Titova	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, Харків, Україна	20
Ткачук М.-М. M.-M. Tkachuk	Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна	70
Христофорова І. О. I. Khrystoforova	Bar-Ilan University, Azrieli Faculty of Medicine, Safed, Israel	73
Ціла О. О. O. Tsila	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	60
Черкасова Т. О. T. Cherkasova	Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, Україна	9
Чернік Я. І. Ya. Chernyk	Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна	52

Чернобай Н. І. N. Chernobai	Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина	17
Шохат-Кавало Х. C. Shochat-Carvalho	Bar-Ilan University, Azrieli Faculty of Medicine, Safed, Israel	73
Ясінський Я.А. Y. Yasinskyi	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна	74

Нотатки

Нотатки

Наукове видання

Матеріали VII Міжнародної конференції
«Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології»
9 – 10 вересня 2021 р.

Українською, англійською мовами

В авторській редакції

Підп. до друку 25.08.2021. Формат 60x84/8.
Ум. друк. арк. 4,94. Тираж 30 пр.
Зам. № 2808.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет
імені І. І. Мечникова

Україна, 65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
Тел.: (048) 723 28 39. E-mail: druk@onu.edu.ua