

ВЛИЯНИЕ ГОЛОДАНИЯ НА ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЖИЗНИ И АПОПТОЗ В КЛЕТКАХ ЯИЧНИКОВ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

М.В. Жукова, Е.В. Киселева

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: elka@bionet.nsc.ru

В настоящей работе проведен сравнительный анализ влияния на *Drosophila melanogaster* разных экспериментальных условий голодания. В первом варианте условий голодания мухи непосредственно контактировали с влажной средой, а во втором – при высокой влажности воздуха не имели доступа к воде. Обнаружено, что исследованные условия голодания не равнозначны. Установлено, что отсутствие доступа к воде существенно снижает среднюю продолжительность жизни *D. melanogaster* по сравнению с тем, что наблюдается в первом варианте условий. Цитологический анализ яичников с использованием окраски акридиновым оранжевым показал, что во втором варианте условий у самок *D. melanogaster* через сутки регистрируются дегенеративные процессы в клетках яичника на всех стадиях оогенеза. Подобных изменений не наблюдалось в яичниках мух, имевших доступ к воде, у которых апоптоз в яичнике регистрировался только в двух контрольных точках – в гермари и вителлари на 7–8-й стадии оогенеза. Полученные данные свидетельствуют о том, что при исследовании действия экспериментальных стрессовых условий необходимо обеспечивать доступ мух к воде, поскольку это предотвращает появление дополнительных изменений, обусловленных обезвоживанием организма насекомых.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*, голодание, продолжительность жизни, акридиновый оранжевый, апоптоз, яичники.

Введение

Способность животных изменять метаболизм в ответ на постоянно меняющиеся условия окружающей среды необходима для их существования. Функции организма условно можно разделить на несколько групп: выживание, размножение, рост и развитие. В условиях с ограниченными энергетическими ресурсами организмы не могут одновременно максимально удовлетворить все свои потребности (Boggs, 1994; Zera, Harshman, 2001). На какие-то функции в определенный момент времени выделяется больше энергии, в то время как снабжение ресурсами других функций уменьшается. Так, для плодовых мушек *Drosophila melanogaster* было показано сопряжение признака устойчивости к голоданию и функции размножения. В линиях *D. melanogaster*, селектируемых в течение нескольких поколений по признаку устойчивости

к голоданию, самки откладывают меньше яиц в первые 5 дней жизни по сравнению с самками из стандартных лабораторных линий (Wayne *et al.*, 2006). В других экспериментах установлено, что процесс оогенеза у *D. melanogaster* значительно замедляется при недостатке белкового питания (Drummond-Barbosa, Spradling, 2001).

Известно, что в норме в яичнике *D. melanogaster* может происходить запрограммированная гибель клеток (апоптоз) в двух контрольных точках (checkpoint) (рис. 1), одна из которых находится в гермари, а другая – в вителлари, на 7–8-й стадии оогенеза (Giorgi, Deri, 1976; Drummond-Barbosa, Spradling, 2001). Обнаружено, что при голодании количество яйцевых камер, подвергающихся апоптозу, в обеих контрольных точках увеличивается (Drummond-Barbosa, Spradling, 2001). Продолжительность жизни (ПЖ) *D. melanogaster* в условиях голодания значительно снижается. Максимальная

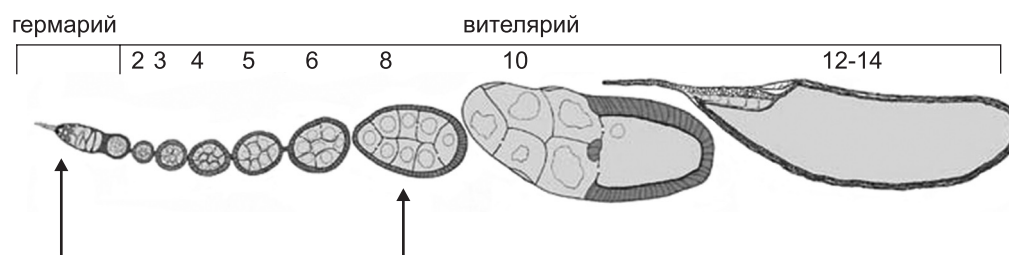


Рис. 1. Схема строения яйцевой трубки в яичнике *D. melanogaster* и локализация контрольных точек (checkpoint).

Цифрами обозначены последовательные стадии оогенеза. Контрольные точки в гермарии и вителлярии отмечены стрелками (модифицировано из: Drummond-Barbosa, Spradling, 2001).

ПЖ мух составляет в среднем 50–80 дней (Grotewiel *et al.*, 2005), в то время как ПЖ мух при голодании может колебаться от 20 часов (у самцов линий *D. melanogaster*, чувствительных к голоданию) до 8 дней (у самок линии мух, селективируемой на устойчивость к голоданию) (Rion, Kaweckі, 2007).

При исследовании реакции организмов на стресс большое значение имеют условия постановки эксперимента. В настоящее время в работах по изучению действия полного голодания на жизнедеятельность *D. melanogaster* используются две модификации экспериментальных условий. Согласно одной из них, мухи помещаются в пустую пробирку, соединенную с небольшой емкостью, содержащей влажную вату. Пробирка и емкость разделяются марлей, что обеспечивает повышенную влажность в пробирке с мухами в отсутствие доступа к воде (Service *et al.*, 1985; Harcombe, Hoffmann, 2004; Hoffmann *et al.*, 2005; Telonis-Scott *et al.*, 2006). Согласно другой модификации эксперимента, насекомые в пробирках непосредственно контактируют с влажной ватой или кормом, состоящим только из агарозы и воды (Wigglesworth, 1949; Harbison *et al.*, 2005; Bauer *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009). С целью выяснения адекватности обоих методов в настоящей работе был проведен сравнительный анализ влияния этих двух вариантов условий голодания на продолжительность жизни и морфологию яичников *D. melanogaster*.

Материалы и методы

В работе использовали лабораторную линию мух *D. melanogaster* w1118TT, предоставленную

профессором Скоттом О'Нейлом (Университет Квинсленда, Австралия). Мухи содержались в термостате при температуре 25 °С на стандартном дрожжевом-агаровом корме. Корм заменяли свежим каждые 3 дня.

Голодание мух проводили в двух вариантах условий эксперимента. Вариант 1: 5-дневных мух переносили со стандартного корма в пустые пробирки, которые закрывались влажной ватой. Вариант 2: 5-дневных мух переносили со стандартного корма в пустую пробирку, соединенную с невысокой емкостью, в которой находилась вата, смоченная 10 мл воды. Соединенные вместе пробирку и емкость разделяли слоем марли. Смоченная водой вата была необходима для поддержания высокой влажности в пробирке с мухами. В обоих вариантах условий голодания пробирки с мухами помещали в термостат с температурой 25 °С.

Для определения продолжительности жизни *D. melanogaster* в условиях голодания 5-дневных мух наркотизировали диэтиловым эфиром и разделяли на самцов и самок. Каждые 30 особей помещали в пробирку объемом 40 мл согласно описанным выше условиям голодания. Эксперименты повторяли два раза и в каждом из них учитывали продолжительность жизни 120–150 особей каждого пола. Подсчет погибших мух осуществляли каждые 8–10 часов. Обработку результатов проводили с помощью стандартных статистических методов (Васильева, 2007).

Оценку уровня апоптоза в яичниках мух в стандартных условиях и при голодании проводили с помощью окраски клеток яичников акридиновым оранжевым с последующим анализом препаратов в флуоресцентном мик-

роскопе. Акридиновый оранжевый является прижизненным высокоспецифичным красителем, окрашивающим лизосомы и ядра клеток, которые подверглись апоптозу (Мроке, Wolfe, 1997). Окраску проводили согласно описанной ранее методике (Abrams *et al.*, 1993). Для цитологического анализа яичники 5-дневных мух выделяли в растворе Эфрусси-Бидла Рингера (130 мМ NaCl, 4,7 мМ KCl, 1,9 мМ CaCl₂, 10 мМ Hepes, pH 6,9), окрашивали в течение 3 минут в растворе акридинового оранжевого (5 мкг/мл) на 0,1 М Na-фосфатном буфере, pH 7,2 при комнатной температуре. Затем яичники переносили на предметное стекло в каплю галокарбонного масла, покрывали покровным стеклом и анализировали в флуоресцентном микроскопе (Axioscop 2, Zeiss, Германия) с длиной волны возбуждающего света 390 нм и барьерным фильтром 420–450 нм.

Результаты и обсуждение

В условиях голодания, при которых мухи линии *D. melanogaster* w1118T контактировали с влажной ватой (вариант 1), средняя продолжительность их жизни (ПЖ) составила $48,2 \pm 0,5$ ч для самцов и $59,6 \pm 0,7$ ч для самок (рис. 2). Наши исследования показали, что самцы более чувствительны к голоданию по сравнению с самками, хотя и в нормальных условиях продолжительность жизни самцов ниже, чем у самок (Lints *et al.*, 1983). Это согласуется с данными других авторов, исследовавших действие голодания в тех же условиях на продолжительность жизни мух (Lee, Park, 2004; Matzkin *et al.*, 2009). Следует отметить, что наши данные расходятся с результатами, полученными двумя другими группами исследователей (Harshman *et al.*, 1999; Harbison *et al.*, 2005), согласно которым средняя ПЖ мух в этих условиях была существенно ниже, хотя различия между самцами и самками были также отмечены. Возможно, это связано с использованием других линий *D. melanogaster*. Нами установлено, что средняя ПЖ мух, содержащихся в условиях с высокой влажностью воздуха, но без прямого доступа к воде (вариант 2), составляет $40,3 \pm 1,0$ ч и $52,5 \pm 1,3$ ч для самцов и самок соответственно (рис. 2). Таким образом, отсутствие прямого доступа к воде достоверно снижает продолжительность

жизни мух. Полученные нами значения были несколько выше, чем у других авторов, у которых средняя ПЖ мух в аналогичных нашим условиях составила 22 ч для самцов и 40–46,9 ч для самок (Service *et al.*, 1985; Telonis-Scott *et al.*, 2006). Такие различия могут быть связаны, как уже упоминалось выше, с использованием других лабораторных линий *D. melanogaster*, отличающихся устойчивостью к голоданию, и с некоторыми различиями в постановке эксперимента. Наши исследования показали, что средняя ПЖ у самок и самцов, не имевших доступа к воде, была достоверно меньше ($p < 0,001$), чем в условиях прямого контакта насекомых с водой.

Половой диморфизм по признаку ПЖ при голодании был ранее обнаружен у разных видов мух рода *Drosophila* (Service *et al.*, 1985; Sharmila Bharathi *et al.*, 2003; Matzkin *et al.*, 2009). Показано, что выживаемость *Drosophila* в условиях голодания зависит от количества углеводов и жиров в составе их тканей (Maggon *et al.*, 2003). Для нескольких видов *Drosophila* показано, что ПЖ выше у самок, тело которых содержит большее количество углеводов и жиров по сравнению с телом самцов (Maggon *et al.*, 2003; Sharmila Bharathi *et al.*, 2003). Однако самцы способны использовать имеющиеся энергетические запасы более эффективно, чем самки, так как отношение длительности жизни при голодании (часы) к массе липидов в тканях тела (мг) у них выше, чем у самок (Sharmila Bharathi *et al.*, 2003). Кроме того, при голодании ответ на стресс у самок и самцов

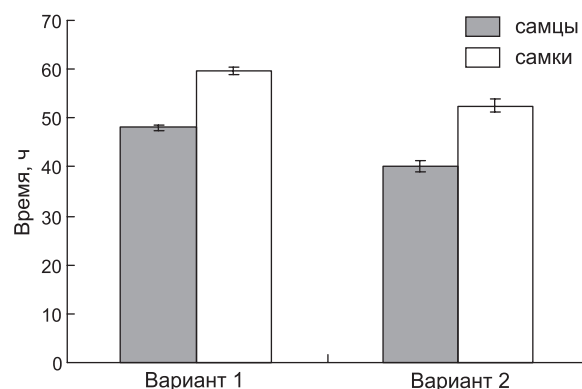


Рис. 2. Средняя продолжительность жизни *D. melanogaster* при голодании в варианте 1 (доступ к влажной вате) и варианте 2 (без прямого доступа к воде).

D. melanogaster различается по уровню экспрессии 715 генов (Harbison *et al.*, 2005). Теми же авторами было установлено, что у самок голодание сопровождается снижением экспрессии генов, вовлеченных в процесс гаметогенеза и молекулярной передачи сигналов, а у самцов – снижением экспрессии генов, вовлеченных в регуляцию механической чувствительности и полового поведения мух.

После оценки выживаемости *D. melanogaster* в двух вариантах условий голодания нами было исследовано влияние этих двух условий на морфологию репродуктивных органов мух. Для этого яичники *D. melanogaster*, голодавших в течение суток, окрашивали акридиновым оранжевым для выявления клеток, подвергшихся апоптозу. Апоптоз в яичниках самок может происходить в норме в двух контрольных точках: в гермарию и в клетках вителлярю на 7–8-й стадии оогенеза (Giorgi, Deri, 1976; Drummond-Barbosa, Spradling, 2001). У самцов в процессе сперматогенеза нет стадий, на которых происходил бы апоптоз ни в нормальных условиях, ни под действием стресса (Gartner *et al.*, 2008). В стандартных лабораторных условиях (мухи содержатся на дрожжевом-агаровом корме) яйцевые трубки яичников *D. melanogaster* имеют типичную морфологию (рис. 3). Среди них

встречаются как яйцевые трубки с клетками, подвергшимися апоптозу, так и не содержащие подобные клетки. Яйцевые трубки, в которых апоптоз отсутствовал, имели зеленую окраску, желтое или оранжевое свечение, характерное для окрашенных акридиновым оранжевым клеток, подвергшихся апоптозу, в них не выявлялось (рис. 3, а). В других яйцевых трубках наблюдались клетки, подвергшиеся апоптозу в гермарию и в вителлярю на 7–8-й стадии оогенеза (рис. 3, б).

При голодании мух с доступом к воде морфология яйцевых трубок практически не отличалась от той, что наблюдалась в яичниках мух, содержащихся в стандартных лабораторных условиях (рис. 4, а, б). После голодания в яичниках количество яйцевых камер на 7–8-й стадии оогенеза, подвергшихся апоптозу, увеличилось приблизительно в 2 раза (рис. 4, а). Обнаружено, что через сутки после голодания в условиях высокой влажности без доступа к воде в большом количестве яичников происходят изменения, связанные не только с апоптозом на 7–8-й стадии оогенеза, но и с дегенерацией яйцевых камер на всех стадиях оогенеза (рис. 4, в). Однако в некоторых яичниках яйцевые трубки сохраняли типичную морфологию (рис. 4, г).

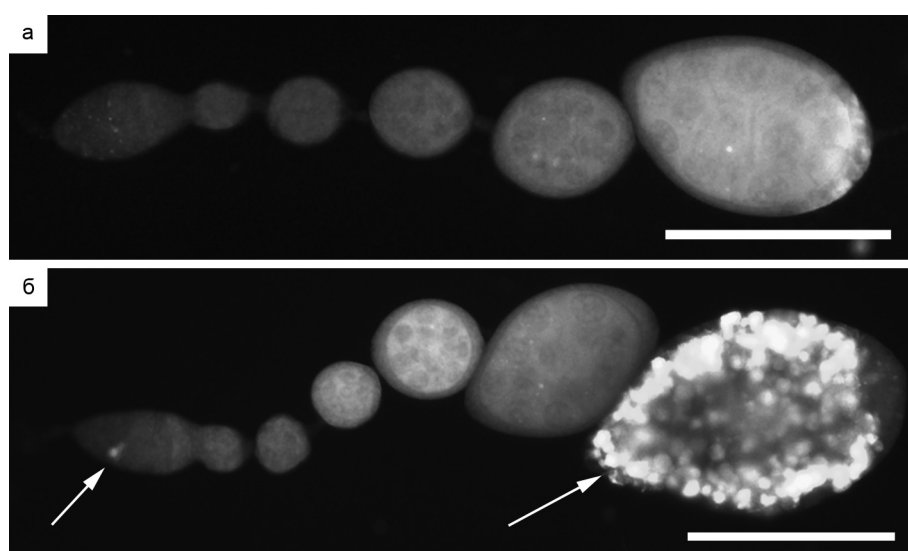


Рис. 3. Морфология яйцевых трубок *D. melanogaster* w1118T, окрашенных акридиновым оранжевым, в яичнике мух, содержащихся в стандартных лабораторных условиях.

а – яйцевая трубка без клеток, подвергшихся апоптозу; б – яйцевая трубка с апоптозом в клетках гермарию и вителлярю на 7-й стадии оогенеза. Масштаб: 50 мкм.

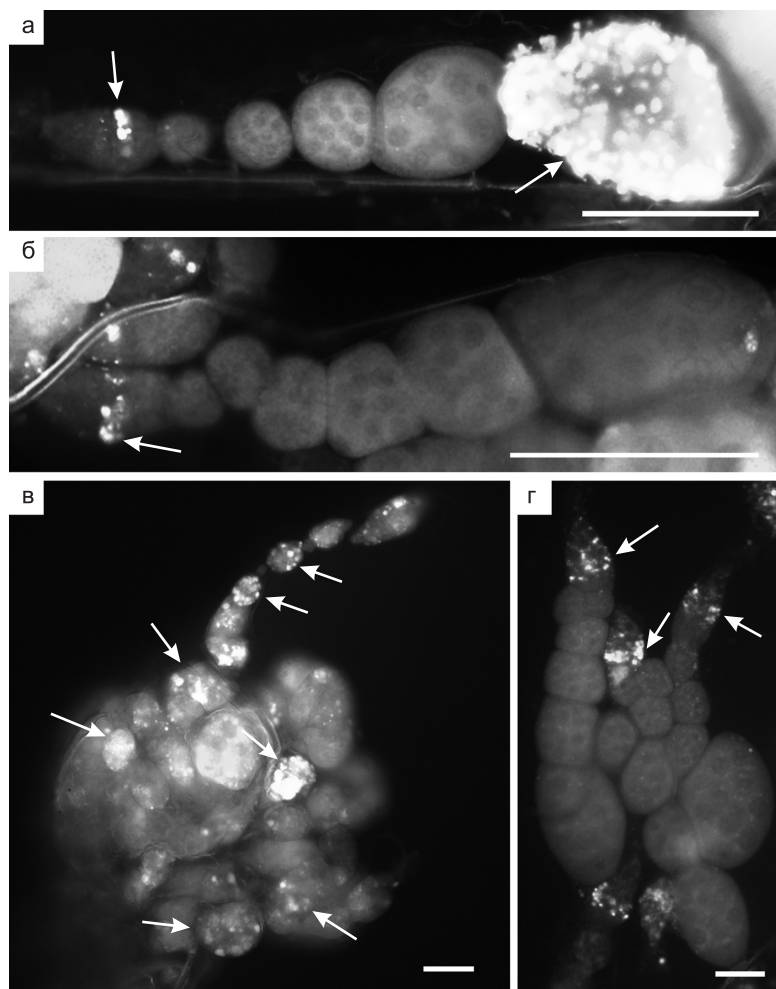


Рис. 4. Морфология яйцевых трубок *D. melanogaster* w1118T, выделенных из яичников мух, голодавших в течение суток (окраска акридиновым оранжевым).

а, б – яйцевые трубки после голодания мух в варианте 1 (с доступом к воде); в, г – яйцевые трубки после голодания мух в варианте 2 (высокая влажность, без доступа к воде). Стрелки указывают на клетки, подвергшиеся апоптозу в гермариин и вителлярии яйцевых трубок. Масштаб: 50 мкм.

Ранее было показано, что количество яйцевых камер, подвергшихся апоптозу на 7–8-й стадии оогенеза *D. melanogaster*, увеличивается при недостатке белкового питания под воздействием на мух излучений с частотой 900 МГц или их обработке различными химическими агентами (Nezis *et al.*, 2000; Drummond-Barbosa, Spradling, 2001; Panagopoulos *et al.*, 2007). Мы показали, что голодание в двух вариантах, включающих либо доступ мух к воде, либо его отсутствие, влияет по-разному на апоптоз в клетках яйцевых камер. Зарегистрирована множественная дегенерация яйцевых камер в яичнике *D. melanogaster* на всех стадиях ооге-

неза в условиях голодания, при которых мухи не имели доступа к воде. Подобные изменения в клетках яичника мух в литературе ранее не были описаны, хотя ряд авторов использовали и продолжают использовать подобные условия голодания в своих экспериментах (Service *et al.*, 1985; Harcombe, Hoffmann, 2004; Hoffmann *et al.*, 2005; Telonis-Scott *et al.*, 2006).

Следует отметить, что использованные нами условия голодания отличаются от экспериментальных условий для изучения засухоустойчивости *D. melanogaster*. Для оценки этого параметра мух не только лишают доступа к воде, но и содержат в присутствии осушите-

ля воздуха, например силикагеля – SiO_2 или хлорида кальция – CaCl_2 (Marron *et al.*, 2003; Sharmila Bharathi *et al.*, 2003). Было показано, что при такой дегидратации воздуха средняя ПЖ *D. melanogaster* значительно ниже, чем в использованных нами условиях голодания: 7,6–9,5 ч для самцов и 13,4–15,6 ч для самок (Service *et al.*, 1985; Matzkin *et al.*, 2009). Таким образом, наш вариант двух условий является промежуточным между условиями голодания мух с непосредственным доступом к воде и при их содержании в сухом воздухе.

Интересно, что признаки устойчивости к двум типам стресса – обезвоживанию и голоданию – связаны между собой. Линии *D. melanogaster*, селекционируемые в течение нескольких поколений по признаку засухоустойчивости, демонстрируют также высокую устойчивость к голоданию (Telonis-Scott *et al.*, 2006). В ряде работ было показано, что такие насекомые способны накапливать большее количество гликогена или жиров в тканях (Bradley *et al.*, 1999; Hoffmann *et al.*, 2005; Gefen *et al.*, 2006). Помимо этого была предложена гипотеза о снижении метаболической активности в организме *D. melanogaster* в селекционируемых на устойчивость к голоданию линиях (Hoffmann, Parsons, 1989), но дальнейшего подтверждения она не получила (Bradley *et al.*, 1999). Характерным признаком для засухоустойчивых линий мух *D. melanogaster* является более низкая скорость потери воды в воздухе с низкой влажностью. Такое свойство было обнаружено как у селекционируемых в лабораторных условиях линий *D. melanogaster* (Bradley *et al.*, 1999), так и при сравнении разных видов *Drosophila*, обитающих в засушливых районах и в районах с умеренной влажностью воздуха (Gibbs, Matzkin, 2001). В то же время при отборе линии мух по признаку устойчивости к голоданию в условиях, подобных нашему варианту 1 (с доступом к воде), показано, что насекомые имели низкий уровень засухоустойчивости, сходный с тем, что наблюдался в контрольной линии, не подвергавшейся какому-либо отбору (Bubliy, Loeschke, 2005). Однако при отборе *D. melanogaster* на устойчивость к голоданию в условиях, подобных нашему варианту 2, насекомые демонстрировали повышенную засухоустойчивость (Hoffmann *et al.*, 2005). Эти данные свидетельствуют о том, что мухи,

селекционируемые по признаку устойчивости к голоданию в вариантах 1 и 2, отличаются по засухоустойчивости. Вариант 2 способствует селекции одновременно в двух направлениях – устойчивости к голоданию и засухе.

Что же является причиной дегенерации яйцевых камер в яичниках мух, голодающих в отсутствие доступа к воде? С физической точки зрения как в варианте 1, так и в варианте 2 относительная влажность воздуха через некоторый промежуток времени достигает 100 %, когда замкнутая система воздух–вода в обоих случаях в пробирках приходит в равновесное состояние. Время насыщения воздуха влагой зависит от объема емкости, в которой проводится эксперимент (Плановский и др., 1967). В таких условиях мухи *D. melanogaster* могут терять влагу с поверхности своего тела только на первом этапе эксперимента, но затем при относительной влажности воздуха 100 % они перестают терять влагу за счет испарения. В условиях голодания без доступа к воде мухи используют имеющиеся у них запасы гликогена и жиров, и их организм постепенно обезвоживается. В отличие от этого в варианте 1 при такой же влажности воздуха мухи могут поддерживать свою жизнедеятельность за счет воды, потребляемой из внешней среды. Таким образом, высокая влажность воздуха не является достаточным условием для корректного проведения экспериментов в условиях стресса *D. melanogaster*. Можно предполагать, что причиной наблюдаемых нами нарушений являются изменения метаболических процессов, связанные с обезвоживанием насекомых.

Заключение

Несмотря на то что в недавних работах некоторые исследователи использовали условия голодания *D. melanogaster* в отсутствие доступа мух к воде (Harcombe, Hoffmann, 2004; Hoffmann *et al.*, 2005; Telonis-Scott *et al.*, 2006), следует отметить, что этот метод не является адекватным для анализа действия голодания и других факторов на жизнедеятельность насекомых. В настоящее время многие авторы используют голодание в варианте 1, что обеспечивает получение более достоверных данных по сравнению с вариантом 2 (Harbison *et al.*,

2005; Bauer *et al.*, 2006; Brown *et al.*, 2009). Наши результаты свидетельствуют о высокой чувствительности *D. melanogaster* к недостатку влаги. При исследовании влияния различных стрессовых факторов на *D. melanogaster*, таких, например, как голодание или повышенная температура, необходимо обеспечивать насекомым доступ к воде, так как дефицит влаги может оказать существенное влияние на результаты проводимых экспериментов.

Работа поддержана Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Биологическое разнообразие» № 23.30 и грантом РФФИ № 09-04-00872-а.

Литература

- Васильева Л.А. Статистические методы в биологии, медицине и сельском хозяйстве. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2007. 128 с.
- Плановский А.Н., Рамм В.М., Каган С.З. Процессы и аппараты химической технологии. М.: Химия, 1967. 848 с.
- Abrams J.M., White K., Fessler L.I., Steller H. Programmed cell death during *Drosophila* embryogenesis // *Development*. 1993. V. 117. P. 29–43.
- Bauer M., Katzenberger J.D., Hamm A.C. *et al.* Purine and folate metabolism as a potential target of sex-specific nutrient allocation in *Drosophila* and its implication for lifespan-reproduction tradeoff // *Physiol. Genomics*. 2006. V. 25. № 3. P. 393–404.
- Boggs C.L. The role of resource allocation in understanding reproductive patterns // *Individual, populations and patterns in ecology* / Eds S.R. Leather, A.D. Watt, N.J. Mills, K.E.A. Walters. Andover: Intercept Press, 1994. P. 25–33.
- Bradley T.J., Williams A.E., Rose M.R. Physiological responses to selection for desiccation resistance in *Drosophila melanogaster* // *Am. Zool.* 1999. V. 39. P. 337–345.
- Brown A.E., Baumbach J., Cook P.E., Ligoxygakis P. Short-term starvation of immune deficient *Drosophila* improves survival to gram-negative bacterial infections // *PLoS ONE*. 2009. V. 4. № 2. P. e4490.
- Bubliy O.A., Loeschcke V. Correlated responses to selection for stress resistance and longevity in a laboratory population of *Drosophila melanogaster* // *J. Evol. Biol.* 2005. V. 18. P. 789–803.
- Drummond-Barbosa D., Spradling A.C. Stem cells and their progeny respond to nutritional changes during *Drosophila* oogenesis // *Dev. Biol.* 2001. V. 231. P. 265–278.
- Gartner A., Boag P.R., Blackwell T.K. Germline survival and apoptosis // *WormBook* / Ed. M. Chalfie, J Mendel. 2008. P. 1–20.
- Gefen E., Marlon A.J., Gibbs A.G. Selection for desiccation resistance in adult *Drosophila melanogaster* affects larval development and metabolite accumulation // *J. Exp. Biol.* 2006. V. 209. P. 3293–3300.
- Gibbs A.G., Matzkin L.M. Evolution of water balance in the genus *Drosophila* // *J. Exp. Biol.* 2001. V. 204. P. 2331–2338.
- Giorgi F., Deri P. Cell death in ovarian chambers of *Drosophila melanogaster* // *J. Embryol. Exp. Morphol.* 1976. V. 35. P. 521–533.
- Grotewiel M.S., Martin I., Bhandari P., Cook-Wiens E. Functional senescence in *Drosophila melanogaster* // *Ageing Res. Rev.* 2005. V. 4. P. 372–397.
- Harbison S.T., Chang S., Kamdar K.P., Mackay T.F.C. Quantitative genomics of starvation stress resistance in *Drosophila* // *Genome Biol.* 2005. V. 6. P. R36.
- Harcombe W., Hoffmann A.A. *Wolbachia* effects in *Drosophila melanogaster*: in search of fitness benefits // *J. Invertebr. Pathol.* 2004. V. 87. P. 45–50.
- Harshman L.G., Hoffmann A.A., Clark A.G. Selection for starvation resistance in *Drosophila melanogaster*: Physiological correlates, enzyme activities and multiple stress responses // *J. Evol. Biol.* 1999. V. 12. № 2. P. 370–379.
- Hoffmann A.A., Hallas R., Anderson A.R., Telonis-Scott M. Evidence for a robust sex-specific trade-off between cold resistance and starvation resistance in *Drosophila melanogaster* // *J. Evol. Biol.* 2005. V. 18. P. 804–810.
- Hoffmann A.A., Parsons P.A. Selection for increased desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*: additive genetic control and correlated responses for other stresses genetics // *Genetics*. 1989. V. 122. № 4. P. 837–845.
- Lee G., Park J.H. Hemolymph sugar homeostasis and starvation-induced hyperactivity affected by genetic manipulations of the adipokinetic hormone-encoding gene in *Drosophila melanogaster* // *Genetics*. 2004. V. 167. P. 311–323.
- Lints F.A., Bourgeois M., Delalieux A. *et al.* Does the female life span exceed that of the male? A study in *Drosophila melanogaster* // *Gerontology*. 1983. V. 29. № 5. P. 336–352.
- Marron M.T., Markow T.A., Kain K.J., Gibbs A.G. Effects of starvation and desiccation on energy metabolism in desert and mesic *Drosophila* // *J. Insect Physiol.* 2003. V. 49. № 3. P. 261–270.
- Matzkin L.M., Watts T.D., Markow T.A. Evolution of stress resistance in *Drosophila*: interspecific variation in tolerance to desiccation and starvation // *Funct. Ecol.* 2009. V. 23. P. 521–527.
- Mpoke S.S., Wolfe J. Differential staining of apoptotic nuclei in living cells: application to macronuclear elimination in *Tetrahymena* // *J. Histochem. Cyto-*

- chem. 1997. V. 45. № 5. P. 675–683.
- Nezis I.P., Stravopodis D.J., Papassideri I. *et al.* Stage-specific apoptotic patterns during *Drosophila* oogenesis // Eur. J. Cell Biol. 2000. V. 79. № 9. P. 610–620.
- Panagopoulos D.J., Chavdoula E.D., Nezis I.P., Margaritis L.H. Cell death induced by GSM 900-MHz and DCS 1800-MHz mobile telephony radiation // Mutat. Res. 2007. V. 626. P. 69–78.
- Rion S., Kawecki T.J. Evolutionary biology of starvation resistance: what we have learned from *Drosophila* // J. Evol. Biol. 2007. V. 20. № 5. P. 1655–1664.
- Service P.M., Hutchinson E.W., Mackinely M.D., Rose M.R. Resistance to environmental stress in *Drosophila melanogaster* selected for postponed senescence // Physiol. Zool. 1985. V. 58. № 4. P. 380–389.
- Sharmila Bharathi N., Prasad N.G., Shakarad M., Joshi A. Variation in adult life history and stress resistance across five species of *Drosophila* // J. Genet. 2003. V. 82. № 3. P. 191–205. Blackwell Publishing Ltd.
- Telonis-Scott M., Guthridge K.M., Hoffmann A.A. A new set of laboratory-selected *Drosophila melanogaster* lines for the analysis of desiccation resistance: response to selection, physiology and correlated responses // J. Exp. Biol. 2006. V. 209. P. 1837–1847.
- Wayne M.L., Soundararajan U., Harshman L.G. Environmental stress and reproduction in *Drosophila melanogaster*: starvation resistance, ovariole numbers and early age egg production // BMC Evol. Biol. 2006. V. 6. P. 57.
- Wigglesworth V.B. The utilization of reserve substances in *Drosophila* during flight // J. Exp. Biol. 1949. V. 26. № 2. P. 150–163.
- Zera A.J., Harshman L.G. The physiology of life history trade-offs in animals // Annu. Rev. Ecol. Syst. 2001. V. 32. P. 95–126.

INFLUENCE OF STARVATION ON THE LIFESPAN AND APOPTOSIS IN OVARIAN CELLS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

M.V. Zhukova, E.V. Kiseleva

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: elka@bionet.nsc.ru

Summary

The influence of different experimental conditions of starvation on *Drosophila melanogaster* was compared. Flies of one experimental group were kept with access to wet cotton, whereas the second group was kept in humid air without direct access to water. It was shown that these two starvation conditions were not equivalent. The mean lifespan of *D. melanogaster* without access to water was significantly shorter than in the first group. Degenerative cells at all stages of oogenesis were recorded in acridine orange-stained ovaries of *D. melanogaster* exposed to the conditions of the second experimental variant for twenty-four hours. No such changes were found in the ovaries of flies which had access to water. Apoptosis in the ovaries of such flies was recorded only in two checkpoints located in the germarium and vitelarium on stages 7–8 of oogenesis. The results indicate that it is necessary to provide access of flies to water in order to eliminate the influence of desiccation on *Drosophila* organisms in stress experiments.

Key words: *Drosophila melanogaster*, starvation, lifespan, acridine orange, apoptosis, ovaries.