

Міністерство освіти і науки України
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна

Біологічний факультет

Кафедра генетики і цитології

До захисту допущено

Кафедрою генетики і цитології протокол № _____ від _____

завідувач кафедри _____
(підпис)

Наталя ВОЛКОВА
(ім'я, прізвище)

«05» грудня 2025 р.

Кваліфікаційна робота
здобувача другого (магістерського) рівня вищої освіти

Порівняльна характеристика тривалості життя імаго ліній *Canton-S* та *radius incompletus Drosophila melanogaster* за умов розвитку батьківських особин на середовищі з додаванням фолієвої кислоти
(назва роботи)

Спеціальність (спеціалізація) 091 Біологія та біохімія

(код та найменування спеціальності; спеціалізації спеціальності - за наявності)

Освітня програма

Біологія
(назва освітньої програми)

Виконавець _____
(підпис)

Поліна КРЕСТЮНІНА
(ім'я, прізвище)

Науковий керівник _____
(підпис)

Наталя ВОЛКОВА
(ім'я, прізвище)

Харків – 2025

Анотація

Робота викладена на 42 сторінках друкованого тексту, містить 7 таблиць, 7 рисунків, 30 джерел літератури.

Ключові слова: тривалість життя, фолієва кислота, імаго дрозофіл.

Фолієва кислота (вітамін В₉) - водорозчинний вітамін. Виконує ключові функції в обміні одноатомних карбонових груп (наприклад, у синтезі нуклеотидів, амінокислот та обміні метильних сполук). Дослідження впливу фолієвої кислоти на тривалість життя нащадків *Drosophila melanogaster*, чий батьки розвивалися в середовищі з її додаванням, дозволяє чи мають місце трансгенераційні ефекти при споживанні надлишку цього вітаміну. Це має значення не лише для розуміння механізмів старіння, але й для оцінки впливу харчових факторів на генетичну стабільність і адаптаційний потенціал популяцій.

Мета цієї роботи - порівняти ефекти внаслідок розвитку батьківських особин лінії дикого типу *Canton-S* та мутантної – *radius incompletus Drosophila melanogaster* на середовищі з додаванням фолієвої кислоти на тривалість життя імаго їхніх нащадків різної статі.

У підсумку було встановлено, що для імаго лінії дикого типу *Canton-S Drosophila melanogaster* мають місце залежні від статі ефекти на показники, що характеризують тривалість життя, в умовах споживання/не споживання самими особинами та/або їхніми батьками додаткової фолієвої кислоти. Для нащадків жіночої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидва або тільки материнська особина) виявлено нижчий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з відповідною контрольною групою. Для нащадків чоловічої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидва або

тільки материнська особина) виявлено вищий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з відповідною контрольною групою.

Для імаго лінії *radius incompletus Drosophila melanogaster* встановлені залежні від статі ефекти на показники, що характеризують тривалість життя, в умовах споживання/не споживання батьками додаткової фолієвої кислоти. Для нащадків жіночої статі від матерів, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти, виявлено нижчий рівень смертності в віці 30 – 43 діб у порівнянні з іншими досліджуваними групами. Для нащадків чоловічої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидві або тільки одна з батьківських особина) виявлено вищий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з контрольною групою. Самці всіх досліджуваних груп характеризуються більшим показником максимальної тривалості життя порівняно з відповідними групами самок.

Annotation

Keywords: lifespan, folic acid, *Drosophila imago*.

Folic acid (vitamin B₉) is a water-soluble vitamin. It performs key functions in the metabolism of mononuclear carboxyl groups (for example, in the synthesis of nucleotides, amino acids, and the metabolism of methyl compounds). Research into the effect of folic acid on the lifespan of *Drosophila melanogaster* offspring whose parents developed in an environment with added folic acid allows us to determine whether transgenerational effects occur when this vitamin is consumed in excess. This is important not only for understanding the mechanisms of aging, but also for assessing the impact of dietary factors on the genetic stability and adaptive potential of populations.

The aim of this study was to compare the effects of raising wild-type *Canton-S* and mutant *radius incompletus* *Drosophila melanogaster* parents in an environment supplemented with folic acid on the lifespan of their offspring of different sexes.

As a result, it was found that for adults of the wild-type *Canton-S* *Drosophila melanogaster* stock, there are sex-dependent effects on indicators characterizing lifespan under conditions of consumption/non-consumption of additional folic acid by the individuals themselves and/or their parents. Female offspring of parents that developed in an environment with added folic acid (both or only the mother) showed lower mortality rates at 30–45 days of age compared to the corresponding control group. Male offspring of parents that developed in an environment with added folic acid (both or only the mother) showed higher mortality rates at 30–45 days of age compared to the corresponding control group.

For the imago of the *radius incompletus* stock of *Drosophila melanogaster*, sex-dependent effects on indicators characterizing lifespan were established under conditions of consumption/non-consumption of additional folic acid by parents. Female offspring of mothers that developed in an environment with added folic

acid showed lower mortality rates at 30–43 days of age compared to other study groups. Male offspring of parents who developed in an environment with added folic acid (both or only one of the parents) showed higher mortality rates at 30–45 days of age compared to the control group. Males in all study groups had a higher maximum lifespan compared to the corresponding groups of females.

Зміст

ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	9
1.1. Біологічні особливості <i>Drosophila melanogaster</i> як модельного об'єкта генетичних досліджень	9
1.2. Молекулярно-генетичні механізми регуляції тривалості життя у комах	11
1.3. Фолієва кислота: біохімічні функції та епігенетичні ефекти у тварин і комах	13
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	15
2.1. Об'єкт і матеріал дослідження	15
2.2. Схема дослідження.....	16
2.3. Методики дослідження	17
2.3.1. Облік тривалості життя імаго	17
2.3.2. Статистичний аналіз.....	17
2.4. Етичні та методологічні зауваги.....	18
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....	19
3.1. Характеристика динаміки виживання імаго <i>Drosophila melanogaster</i> лінії <i>Canton-S</i> та лінії <i>radius incompletus</i> (батьківське покоління).....	19
3.2. Характеристика динаміки виживання імаго <i>Drosophila melanogaster</i> лінії <i>Canton-S</i> (F_1).....	25
3.3. Характеристика динаміки виживання імаго <i>Drosophila melanogaster</i> лінії <i>radius incompletus</i> (F_1)	29
3.4. Статеві відмінності у впливі фолієвої кислоти на тривалість життя в контексті отриманих результатів.....	34
ВИСНОВКИ.....	38
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	39

ВСТУП

Сучасна генетика все частіше звертається до досліджень, які поєднують класичні підходи з елементами епігенетики, екології та молекулярної біології. Одним із найцікавіших напрямів є вивчення того, як чинники середовища — зокрема, харчові речовини — можуть впливати на спадкові програми розвитку та старіння організмів.

Drosophila melanogaster залишається однією з найзручніших модельних систем для таких досліджень. Короткий життєвий цикл, наявність добре вивчених ліній, швидка зміна поколінь і генетична подібність окремих регуляторних механізмів до механізмів у ссавців роблять цей вид надзвичайно корисним для аналізу взаємозв'язку між живленням, метаболізмом і тривалістю життя.

Фолієва кислота (вітамін B₉) є незамінним компонентом клітинного метаболізму, бере участь у синтезі нуклеїнових кислот і метилюванні ДНК — процесах, які безпосередньо впливають на епігенетичну регуляцію експресії генів. Відомо, що дефіцит або надлишок фолієвої кислоти може призводити до змін у розвитку, репродуктивній здатності та навіть тривалості життя організмів. Проте механізми цього впливу залишаються недостатньо з'ясованими, особливо у контексті міжпоколінних ефектів.

Дослідження впливу фолієвої кислоти на тривалість життя нащадків *Drosophila melanogaster*, чий батьки розвивалися в середовищі з її додаванням, дозволяє простежити можливі епігенетичні зміни, що передаються з покоління в покоління. Це має значення не лише для розуміння механізмів старіння, але й для оцінки впливу харчових факторів на генетичну стабільність і адаптаційний потенціал популяцій.

Мета роботи: порівняти ефекти внаслідок розвитку батьківських особин лінії дикого типу *Canton-S* та мутантної — *radius incompletus* *Drosophila melanogaster* на середовищі з додаванням фолієвої кислоти на тривалість життя імаго їхніх нащадків.

Завдання дослідження:

1. Провести огляд літератури щодо ролі фолієвої кислоти у метаболізмі та її впливу на тривалість життя модельних організмів.
2. Визначити тривалість життя імаго у контрольних і дослідних групах двох ліній *Drosophila melanogaster*.
3. Здійснити порівняльний аналіз, охарактеризувати відмінності з точки зору статистичної значущості.
4. Проаналізувати можливі механізми впливу фолієвої кислоти на тривалість життя через епігенетичні або метаболічні зміни.

Об'єкт дослідження: тривалість життя імаго лабораторних ліній *Drosophila melanogaster*

Предмет дослідження: вплив умов розвитку батьківських особин (додавання фолієвої кислоти в середовище) на тривалість життя їхніх нащадків.

Наукова новизна: уперше для ліній *Canton-S* та *radius incompletus* проведено порівняльний аналіз міжпоколінного впливу фолієвої кислоти на різні показники, які характеризують тривалість життя імаго *Drosophila melanogaster*, що дозволяє розглядати цей фактор як потенційний епігенетичний регулятор старіння.

Практичне значення: отримані результати можуть бути використані для подальших досліджень у галузі генетики старіння, епігенетики харчування та вивчення факторів, які впливають на тривалість життя організмів. Вони також можуть стати корисними у викладанні курсів «Генетика розвитку» та «Генетика статі».

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біологічні особливості *Drosophila melanogaster* як модельного об'єкта генетичних досліджень

Drosophila melanogaster — один із найвідоміших і найзручніших модельних організмів у сучасній біології. Її використовують для вивчення фундаментальних процесів спадковості, розвитку, поведінки, еволюції та старіння. З часу відкриття Томасом Г. Морганом у 1910 році зчеплення генів із хромосомами, *Drosophila* стала класичним об'єктом генетичних досліджень, і її роль у формуванні сучасної генетики важко переоцінити.

Однією з головних переваг *Drosophila melanogaster* є її короткий життєвий цикл — від яйця до імаго минає лише близько 12 днів при температурі 25 °С. Така швидка зміна поколінь дозволяє проводити багатопокілінні експерименти у відносно короткі терміни, що особливо важливо для вивчення спадкових і епігенетичних ефектів.

Крім того, дрозофіли мають невеликий геном (приблизно 165 мільйонів пар нуклеотидів), який був повністю секвенований ще у 2000 році, і зараз його анотація постійно оновлюється. За оцінками, у геномі *Drosophila* наявно понад 13 900 генів, багато з яких мають гомологи в геномі людини. За різними джерелами, близько 75% генів, асоційованих із захворюваннями людини, мають аналоги у *Drosophila* (Adams et al., 2021). Саме тому цей організм широко застосовується у функціональній геноміці та біомедичних дослідженнях.

Ще одна перевага *Drosophila* — простота утримання та культивування. Для розведення достатньо стандартного вуглеводно-дріжджового середовища, а невеликий розмір і висока плодючість (до 400–500 яєць від однієї самки) дозволяють легко підтримувати великі популяції в лабораторних умовах.

Існує безліч лабораторних ліній дрозофіли, які відрізняються за генетичними, поведінковими чи фізіологічними характеристиками. Особливе значення мають лінії дикого типу, серед яких *Canton-S* — одна з найпоширеніших і найстабільніших. Цю лінію використовують як еталонну для порівняння результатів досліджень з іншими мутаційними варіантами, оскільки її геном і поведінкові параметри добре охарактеризовані (Yamaguchi et al., 2008).

У *Drosophila melanogaster* вивчені основні етапи онтогенезу: яйце → личинка (три віки) → лялечка → імаго. Ці фази є чітко відокремленими, що дозволяє аналізувати вплив різних факторів (температури, харчових речовин, токсинів, мутацій) на окремі стадії розвитку.

Завдяки добре розробленим генетичним інструментам — системам GAL4/UAS, CRISPR/Cas9, RNAi — *Drosophila* стала потужною моделлю для вивчення регуляції експресії генів та епігенетичних механізмів, включно з метилюванням ДНК, модифікаціями гістонів і дією малих РНК (Lyko, 2006).

Не менш важливо, що дрозофіли демонструють ознаки старіння, подібні до ссавців: поступове зниження рухової активності, фертильності, стійкості до стресів, накопичення оксидативних пошкоджень. Це дозволяє використовувати їх для дослідження молекулярних механізмів тривалості життя та пошуку факторів, які її подовжують або скорочують (Piadi, Boulianne, 2010).

Таким чином, *Drosophila melanogaster* є універсальною експериментальною моделлю, яка поєднує генетичну простоту з високою релевантністю до процесів, що відбуваються в організмі людини. Її використання у дослідженнях впливу фолієвої кислоти на тривалість життя дозволяє не лише виявити можливі метаболічні зміни, але й оцінити потенційні епігенетичні ефекти, що передаються між поколіннями.

1.2. Молекулярно-генетичні механізми регуляції тривалості життя у комах

Тривалість життя організму є багатофакторною ознакою, на яку впливають як генетичні, так і середовищні чинники. Для *Drosophila melanogaster* встановлено, що довголіття визначається складною взаємодією між активністю певних генетичних шляхів, енергетичним метаболізмом, станом антиоксидантної системи та рівнем стресостійкості клітин (Piper & Partridge, 2005).

Одним із центральних механізмів, що регулює тривалість життя у дрозозфіли, є інсулін/інсуліноподібний сигнальний шлях (IIS). Цей шлях контролює ріст, репродуктивну активність і обмін речовин. При зниженні активності рецептора інсуліну (InR) або сигнальних білків, таких як chico (аналог субодиниці інсулінового рецептора у ссавців), спостерігається значне подовження життя мух. Подібні ефекти отримано при активації транскрипційного фактора dFOXO, який регулює експресію генів, відповідальних за антиоксидантний захист, репарацію ДНК і клітинне виживання (Tatar et al., 2001).

Іншим важливим шляхом є mTOR (mechanistic Target of Rapamycin) — універсальний сенсор енергетичного статусу клітини. Надмірна активність mTOR стимулює ріст і синтез білка, але водночас прискорює старіння, зокрема через накопичення пошкоджених білків і мітохондріальну дисфункцію. Зниження активності цього шляху або фармакологічне інгібування рапаміцином подовжує життя *Drosophila* (Bjedov et al., 2010).

Система сиртуїнів (SIR2 у дрозозфіли) також відіграє важливу роль у контролі старіння. Це ферменти, залежні від нікотинамідаденіндинуклеотиду (NAD^+), які регулюють метилювання гістонів, стабільність геному і метаболізм енергії. Підвищення активності SIR2 у дрозозфіл асоціюється з покращенням стресостійкості та подовженням тривалості життя (Frankel et al., 2011).

Важливу роль відіграють і гени антиоксидантного захисту, такі як *Sod* (супероксиддисмутаза), *Cat* (каталаза) та *gstD1* (глутатіон-S-трансфераза). Вони нейтралізують активні форми кисню (АФК), що накопичуються з віком і ушкоджують клітинні структури. У дрізофіл із підвищеною експресією *Sod* спостерігають зниження рівня окисного стресу й помітне збільшення тривалості життя (Arking, 1995).

Крім того, у регуляції старіння велику роль відіграє епігенетичний контроль, тобто зміни експресії генів без зміни послідовності ДНК. До таких механізмів належать модифікації гістонів, метилювання цитозинів у ДНК, а також дія мікроРНК. Зокрема, у старіючих дрізофіл змінюється рівень ацетилювання гістонів H3 і H4, що впливає на експресію генів, залучених у стресові реакції та енергетичний метаболізм (Boros, 2012).

Ці процеси тісно пов'язані з харчуванням і метаболічними сигналами, адже дрізофіла чутлива до змін складу дієти. Доведено, що обмеження калорійності або зміна співвідношення білків і вуглеводів сприяє подовженню життя, частково через активацію FOXO і зниження IIS/mTOR сигналізації (Fanson, Taylor, 2012).

З огляду на це, цікавою моделлю для аналізу є вплив вітамінів групи В, зокрема фолієвої кислоти (вітаміну В₉), яка бере участь у метаболізмі одноатомних вуглеців, синтезі нуклеотидів і реакціях метилювання. Зміни у фолатному циклі можуть впливати на експресію генів через зміну метилювання ДНК і, відповідно, на швидкість старіння.

У дрізофіли фолієва кислота є важливою складовою розвитку, але її надлишок або нестача можуть викликати епігенетичні порушення, що позначаються на стані потомства (Begg, Robertson, 1950; Garrido-Maraver, *et al.*, 2019). Таким чином, вивчення впливу фолієвої кислоти на тривалість життя *Drosophila melanogaster* відкриває можливість глибше зрозуміти, як нутрієнтні сигнали взаємодіють з генетичними механізмами контролю старіння.

1.3. Фолієва кислота: біохімічні функції та епігенетичні ефекти у тварин і комах

Фолієва кислота (вітамін B₉) є водорозчинним вітаміном, що виконує ключові функції в обміні одноатомних вуглеців і, відповідно, у синтезі нуклеотидів, амінокислот та метильних сполук. У клітині вона бере участь у реакціях, які забезпечують синтез пуринів і тимідилату — основних компонентів ДНК, а також у процесах реметилування гомоцистеїну до метіоніну (Lucosk, 2000). Таким чином, фолієва кислота забезпечує не лише нормальний перебіг клітинного поділу, але й підтримує стабільність геному.

В організмі фолати функціонують у вигляді похідних тетрагідрофолату (THF), які діють як переносники одноатомних груп. Ці реакції тісно пов'язані з циклом метіоніну, оскільки метіонін є попередником S-аденозилметіоніну (SAM) — універсального донора метильних груп для метилтрансфераз, які регулюють експресію генів через епігенетичні модифікації. Саме через цей механізм фолієва кислота може опосередковано впливати на транскрипційну активність генів, відповідальних за ріст, розвиток та старіння (Salbaum, Karpen, 2012).

У ссавців дефіцит фолатів викликає порушення ембріонального розвитку, зокрема дефекти нервової трубки, мегалобластну анемію та зниження регенеративної активності тканин. Натомість надлишкове споживання фолієвої кислоти також може бути небезпечним — воно призводить до гіпометилування геному і зміни патернів експресії генів, що може підвищувати ризик неоплазій (Crider, K. S., et al., 2012).

У дрозофіли роль фолієвої кислоти тривалий час залишалася менш вивченою. Відомо, що *Drosophila melanogaster* здатна отримувати фолати не лише з живильного середовища, але й від симбіотичних бактерій мікробіому кишечника. Роботи Begg, Robertson, 1950 та більш сучасні дослідження показали, що зміни у фолатному обміні можуть впливати на розвиток личинок, репродуктивну активність і тривалість життя імаго.

Фолієва кислота, як і інші вітаміни групи В, впливає на епігенетичне програмування потомства, тобто може змінювати фенотипічні характеристики у наступних поколіннях без прямої зміни послідовності ДНК. Дослідження на дрізофілах і ссавцях свідчать, що надлишок або дефіцит фолатів у батьків може призвести до зсуву метилювання ДНК у нащадків, що, у свою чергу, змінює експресію генів, пов'язаних із метаболізмом, стресостійкістю і старінням (Burdge & Lillycrop, 2010).

Деякі роботи показують, що фолієва кислота впливає на активність антиоксидантних ферментів і рівень окисного стресу, які є важливими маркерами старіння. Так, у мух, які отримували додаткові джерела фолатів, спостерігали зміни у співвідношенні відновленого та окисненого глутатіону, а також у функціонуванні мітохондрій, що прямо впливає на тривалість життя (Garrido-Maraver, *et al.*, 2019).

Оскільки дрізофіла є зручним модельним організмом для вивчення спадкових і метаболічних ефектів, дослідження впливу фолієвої кислоти на тривалість життя її імаго дозволяє оцінити не лише фізіологічні наслідки харчових змін, але й потенційні епігенетичні ефекти батьківського середовища. Це робить обрану тему актуальною не лише з точки зору біології старіння, а й у контексті міжпоколінної передачі фенотипових ефектів харчування.

Міжлінійні та статеві відмінності у тривалості життя *Drosophila* — результат складної взаємодії множини генів генотипу особини, статевоспецифічних репродуктивних стратегій та середовищних модифікаторів. Останні роки підкреслюють, що лише інтегративні підходи (генетика, епігенетика, метаболоміка, контроль середовища) дозволяють розкрити механізми цієї варіабельності й прогнозувати реакцію популяцій на зміну умов.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкт і матеріал дослідження

Для проведення цього дослідження використали лінію дикого типу *Canton-S Drosophila melanogaster*.

Дана лінія характеризується стабільним генотипом, високою життєздатністю та типовими фенотиповими ознаками дикого типу. Історично Canton-Special (C-S) походить із природної популяції, ізольованої в місті Кантон-Веллі (штат Огайо, США), і відзначається носійством рецесивної мутації множинних грудних і щиткових щетинок, яка частково перекриває дикий тип, але спорадично проявляється у гомозиготних лініях (FlyBase, 2024).

Інша – мутантна - лінія, яку було використано це *radius incompletus* - лабораторна лінія з мутацією *ri* у гені *knirps*. Ген *knirps*, який визначає коректність формування другої поздовжньої жилки крила імаго (Рис. 1), знаходиться в локусі 3-47.0. Зазвичай, у імаго радіальні жилки виконують функцію основного структурного елемента крила. Вказана мутація виявляється як часткова редукція радіальної жилки обох крил.

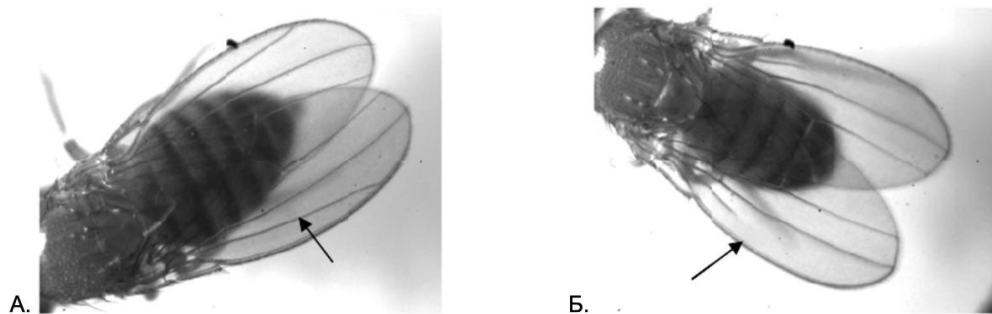


Рис.1. Радіальна жилка крила у нормі (А) та при мутації *radius incompletus* (Б)

Відводки обох ліній походять з «Колекції ліній дрозофіл» кафедри генетики і цитології біологічного факультету Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, яка становить Національне надбання України.

Матеріалом для дослідження були імаго обох статей, батьківського покоління та нащадки отримані від батьківських особин, розвиток яких відбувався у двох типах поживного середовища:

- контрольне середовище — стандартне середовище для розведення дрозофіли;
- дослідне середовище — стандартне середовище із додаванням фолієвої кислоти у концентрації 1 мг/мл.

У досліді використовувався фармакологічний препарат «Фолієва кислота» (Acidum folicum, ЗАТ «Технолог», м. Умань), форма випуску — таблетки по 0,001 г. Активна речовина — фолієва кислота, допоміжні — крохмаль картопляний, цукор, стеарат кальцію.

2.2. Схема дослідження

Дослідження проводили у кілька етапів:

1. Формування батьківських груп — за двома умовами розвитку:
 - контрольна група (стандартне середовище);
 - дослідна група (середовище з додаванням фолієвої кислоти).
2. Отримання нащадків першого покоління від чотирьох типів пар:
 - ♀_к × ♂_к (контроль × контроль);
 - ♀_к × ♂_д (контрольна самка × дослідний самець);
 - ♀_д × ♂_к (дослідна самка × контрольний самець);
 - ♀_д × ♂_д (дослідна самка × дослідний самець).
3. Розвиток нащадків — усі групи F₁ вирощувались на стандартному середовищі.

4. Оцінка тривалості життя імаго — визначалась у нащадків різних типів схрещувань.

2.3. Методики дослідження

2.3.1. Облік тривалості життя імаго

Для оцінки тривалості життя використовували стандартну методику, описану Piper & Partridge (2005). Віргінних імаго (віком до 24 годин) відбирали випадковим чином (80–120 особин кожної статі), розділяли за статтю та розміщували у флаконах з тимчасовим поживним середовищем по 25 особин на кожен. Утримання проводили при температурі 23 ± 2 °C.

Перенесення на свіже поживне середовище виконували через кожні три доби, із фіксацією кількості загиблих особин. На основі цих даних складали таблиці виживання та будували криві доживання (survival curves).

2.3.2. Статистичний аналіз

Аналіз даних проводили за допомогою програмного забезпечення R (версія 4.3) з використанням пакету survival (Therneau, 2009).

Використовували такі статистичні критерії:

- логранговий критерій (Log-rank test) — для порівняння двох груп;
- χ^2 -критерій (Chi-square) — для оцінки різниць між кількома групами;
- метод Каплана–Мейєра — для побудови кривих виживання.

Дані щодо середньої тривалості життя подано як середнє арифметичне $\pm$ стандартне відхилення. Дані щодо медіанної тривалості життя подано як медіану $\pm$ довірчий інтервал. Відмінності вважали статистично значущими при $p < 0,05$.

2.4. Етичні та методологічні зауваги

Експериментальні дані для аналізу були отримані в межах наукового проєкту кафедри генетики і цитології. Експеримент виконано за участі наукового керівника (к.б.н. Н. Є. Волкової) та старшого лаборанта Н. С. Філіпоненко.

Авторка магістерської роботи здійснила оцифровку даних, їх форматування відповідно до вимог програмного забезпечення, статистичний аналіз та інтерпретацію результатів у межах поставленої наукової мети.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

3.1. Характеристика динаміки виживання імаго *Drosophila melanogaster* лінії *Canton-S* та лінії *radius incompletus* (батьківське покоління)

Першим етапом дослідження став аналіз тривалості життя імаго дрозофіл досліджуваних ліній в батьківському поколінні. Тобто у особин контрольної групи та у особин, які в личинковому віці споживали надлишок фолієвої кислоти.

Так (порівн. Табл. 1 та Табл. 2), самці (Табл. 2) характеризуються більш схожими показниками середньої тривалості життя. Міжлінійні відмінності за цим показником відсутні як у самців так і у самок. Середні значення показника для самок нижчі, утім, встановлена варіабельність не дозволяє зробити висновок про наявність значущих відмінностей саме в середній тривалості життя.

Таблиця 1.

Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго жіночої статі різних експериментальних груп (батьківське покоління)

<i>Group_stock</i>	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. dv.</i>	<i>Median</i>	<i>0.95LCL</i>	<i>0.95UCL</i>
к_CS	32	21.3	14.2	16.5	12	27
д_CS	44	31.5	12.7	33	30	39
к_ri	124	30.5	10.6	33	33	33
д_ri	147	31.2	9.56	36	33	36

Примітка: Median – медіанний вік (час, до якого доживає 50% популяції / вибірки); Mean – середня тривалість життя (всереднений час від народження до смерті всіх особин популяції / вибірки); Std.Dv. – стандартне відхилення; Total N – кількість особин у вибірці. *0.95LCL* - *0.95UCL* – довірчий інтервал

Таблиця 2

**Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго
чоловічої статі різних експериментальних груп (батьківське
покоління)**

<i>Group_stock</i>	<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. dv.</i>	<i>Median</i>	<i>0.95LCL</i>	<i>0.95UCL</i>
к_CS	31	39.5	13.4	39	39	51
д_CS	52	34.9	8.99	36	33	39
к_ri	96	34.8	16.0	36	33	42
д_ri	127	38.1	12.0	45	39	45

Примітка: Median – медіанний вік (час, до якого доживає 50% популяції / вибірки); Mean – середня тривалість життя (всереднений час від народження до смерті всіх особин популяції / вибірки); Std.Dv. – стандартне відхилення; Total N – кількість особин у вибірці. 0.95LCL - 0.95UCL – довірчий інтервал

Значення медіанної тривалості життя в більшості груп співпадають з середньою. За виключенням самок контрольної групи лінії *Canton-S*, для яких встановлено істотно нижче значення медіанної тривалості життя як у порівнянні з середньою тривалістю життя, так і з медіанною для усіх інших груп. Подібне зміщення може бути випадковим, внаслідок малочисельності групи (Табл. 1).

Побудовані криві виживання імаго самок різних ліній (Рис. 2) показали наявність чітких відмінностей самок контрольної групи лінії *Canton-S* відносно інших в динаміці смертності в діапазоні часу з 10 по 40 добу. У більшості груп самок середня та медіанна тривалість життя самок відповідала типовим показникам для даної лінії при стабільних лабораторних умовах (Piper & Partridge, 2005).

Слід відзначити, що основні відмінності динаміки виживання, які спостерігаються між статями та залежно від дієти, на якій утримувались особини, відбуваються у віці 30 – 45 діб (Рис.2, Рис.3). Самці виявляють кращу виживаність. Більшість самок до 40 доби гине, а самців на той же час ще від 50% до 30% виживає.

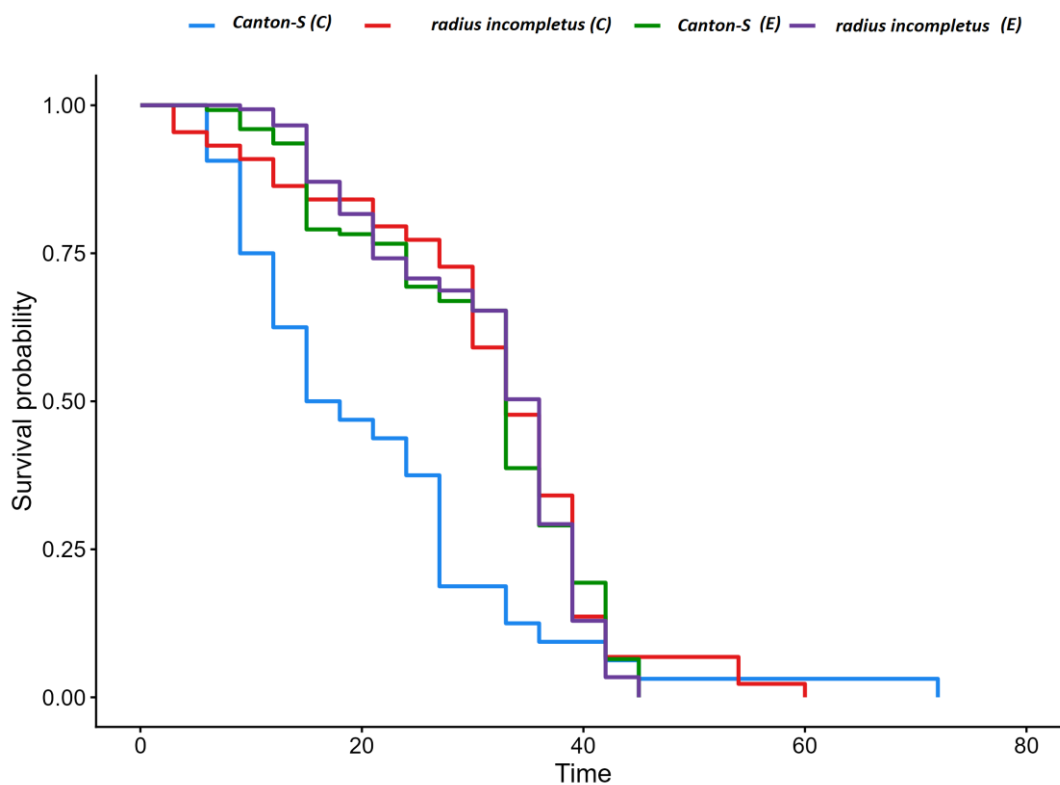


Рис. 2 Криві виживання самок різних дослідних груп батьківського покоління

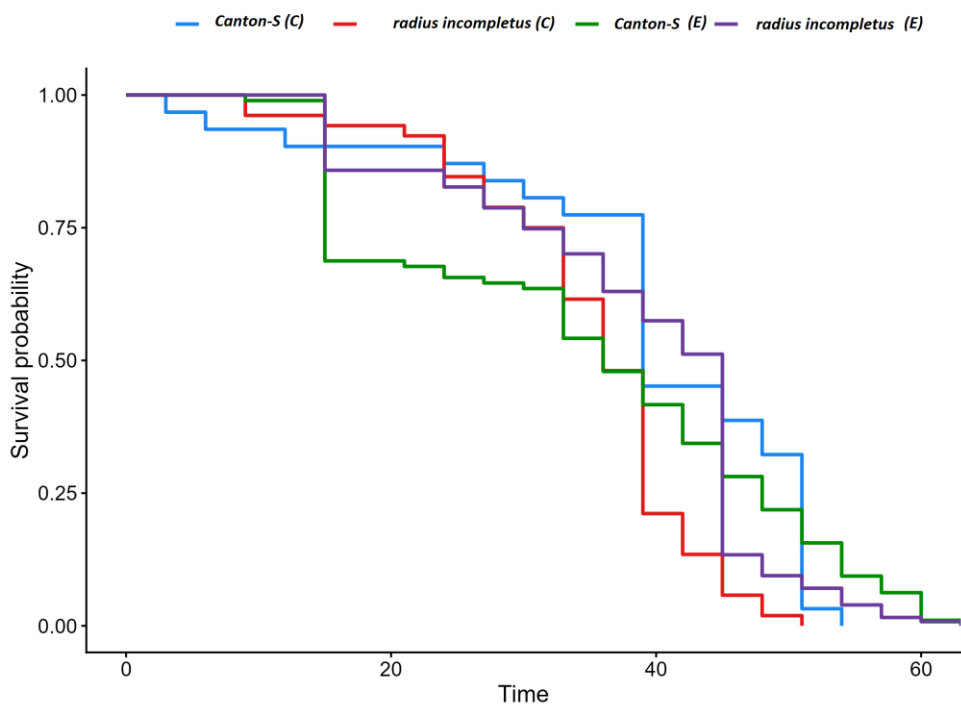


Рис. 3. Криві виживання самців різних дослідних груп батьківського покоління

Міжлінійні відмінності на даному етапі не є очевидними. Тож були додатково проведені множинні порівняння окремих груп (Табл. 3, Табл. 4, наведені як скориговані, так і не скориговані на множинність порівнянь результати статистичного аналізу за допомогою лог-рангового критерію).

Проведений статистичний аналіз підтвердив (Табл. 3), що значущі відмінності кривих виживання самок спостерігаються тільки якщо одна з порівнюваних груп – це самки лінії *Canton-S*. Відмінностей між кривими виживання самок з контрольної та дослідної групи мутантної лінії та самок з дослідної групи *Canton-S* не доведено.

Таблиця 3.

Міжгрупові порівняння кривих виживання самок різних ліній

group1	group2	χ^2	Z	p.value	p.adjusted
к_CS	д_CS	8.72	2.95	0.0031	0.019
к_CS	к_ri	14.12	3.75	0.0002	0.001
к_CS	д_ri	16.32	4.04	0.0001	0.001
д_CS	к_ri	0.14	-0.38	0.7038	1.00
д_CS	д_ri	0.43	-0.66	0.5079	1.00
к_ri	д_ri	0.05	-0.23	0.8104	1.00

Для оцінки відмінностей у кривих виживання самців з експериментальних груп різних ліній *Drosophila melanogaster* було проведено попарні порівняння кривих виживання за допомогою χ^2 -критерію та Z-статистики. У таблиці (Табл. 4) наведені значення χ^2 , відповідні Z-статистики, початкові (p.value) та скориговані на множинні порівняння (p.adjusted) p-значення.

Між контрольною та дослідною групами лінії CS виявлено статистично значущу відмінність ($\chi^2 = 13.87$; $Z = -3.72$; p.value = 0.0001;

$p.adjusted = 0.001$. Це свідчить про істотну різницю кривих виживання, тобто тривалість життя самців цих груп достовірно відрізняється.

Порівняння кривих виживання самців контрольних груп різних ліній - CS та ri - не показало значущих відмінностей ($\chi^2 = 0.07$; $p.value = 0.78$ ($p.adjusted = 1.00$)). Виживання самців цих двох груп практично однакове. Аналогічно, порівняння самців з контрольної групи лінії CS та самців з дослідної групи лінії ri також не продемонструвало статистично значущих відмінностей ($\chi^2 = 0.39$; $p.value = 0.53$ ($p.adjusted = 1.00$)).

При порівнянні кривих виживання самців з дослідної та контрольної груп лінії CS показало слабкі, але статистично значущі відмінності ($\chi^2 = 5.34$; $Z = 2.31$; $p.value = 0.02$; $p.adjusted = 0.12$). Після корекції значущість зникає, тому відмінність можна вважати тенденцією, але не підтвердженим статистичним ефектом.

Дослідні групи самців різних ліній (CS та ri) продемонстрували чітку та статистично значущу відмінність кривих виживання ($\chi^2 = 15.85$; $Z = 3.98$; $p.value = 0.00006$; $p.adjusted = 0.0004$). Це одна з найсильніших відмінностей у вибірці. Криві виживання цих ліній суттєво відрізняються. Тож можна сказати, що представники двох ліній по-різному відреагували на діючий фактор.

Порівняння ж кривих виживання контрольної та дослідної груп лінії ri (самців) показало відсутність значущих відмінностей ($\chi^2 \approx 0.0001$; $p.value = 0.99$ ($p.adjusted = 1.00$)). Виживання цих ліній однакове.

У підсумку можна сказати, що найбільші відмінності спостерігаються у парах $k_{CS} — d_{CS}$ та $d_{CS} — d_{ri}$, де p -значення залишаються значущими після корекції. Самці з групи d_{CS} демонструє найбільш виражені відхилення від інших, що може свідчити про її особливу чутливість або специфічний генетичний фон, який впливає на тривалість життя. Інші порівняння ($k_{CS} — k_{ri}$, $k_{CS} — d_{ri}$, $k_{ri} — d_{ri}$) не демонструють статистично значущих відмінностей, тобто загальний профіль виживання цих вибірок подібний.

Таблиця 4.

Міжгрупові порівняння кривих виживання самців різних ліній

group1	group2	χ^2	Z	p.value	p.adjusted
к_CS	д_CS	13.87	-3.72	0.0001	0.001
к_CS	к_ri	0.07	-0.27	0.78	1.00
к_CS	д_ri	0.39	-0.62	0.53	1.00
д_CS	к_ri	5.34	2.31	0.02	0.12
д_CS	д_ri	15.85	3.98	0.00006	0.0004
к_ri	д_ri	0.0001	0.01	0.99	1.00

3.2. Характеристика динаміки виживання імаго *Drosophila melanogaster* лінії *Canton-S* (F_1)

Аналіз тривалості життя імаго лінії дикого типу *Canton-S Drosophila melanogaster* показав залежні від статі ефекти. Як для самок так і для самців виявлені статистично значущі відмінності кривих виживання імаго ($Chi^2_{\text{самки}} = 24,06$; $df = 3$, $p < 0,05$; $Chi^2_{\text{самці}} = 47,44$, $df = 3$, $p < 0,05$) залежно від приналежності до однієї з дослідних груп.

Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго різних груп наведені в таблиці 5. Так, самці характеризуються більш схожими показниками середньої тривалості життя, при незначному зниженні у нащадків батьківських пар, обидва представники яких споживали фолієву кислоту.

Таблиця 5.

Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго різних груп

	самки				самці			
	Median	Mean	Std.Dv.	Total N	Median	Mean	Std.Dv.	Total N
КхК	30,0	32,4	8,3	113	30,0	33,2	8,8	86
КхД	27,0	29,2	7,9	115	30,0	33,9	7,9	74
ДхК	30,0	31,4	11,2	119	30,0	30,2	5,4	112
ДхД	42,0	36,1	10,6	88	27,0	28,6	9,8	88

Примітка: Median – медіанний вік (час, до якого доживає 50% популяції / вибірки); Mean – середня тривалість життя (всереднений час від народження до смерті всіх особин популяції / вибірки); Std.Dv. – стандартне відхилення; Total N – кількість особин у вибірці.

Відносно нижчою (у порівнянні з представниками контрольної групи) середньою тривалістю життя характеризуються і самці, матері яких

пройшли повний цикл розвитку на середовищі з додаванням фолієвої кислоти. Для самок аналогічного не спостерігається. У нащадків жіночої статі від батьківських пар, обидва представники яких споживали фолієву кислоту, навпаки, підвищується як середня так і медіанна тривалість життя.

Побудовані криві виживання імаго лінії *Canton-S* показали наявність чітких відмінностей залежно від статі та типу батьківської дієти (Рис. 4, 5). У контрольних групах тривалість життя самок і самців відповідала типовим показникам для даної лінії при стабільних лабораторних умовах (Piper & Partridge, 2005): медіана становила 30 діб для обох статей.

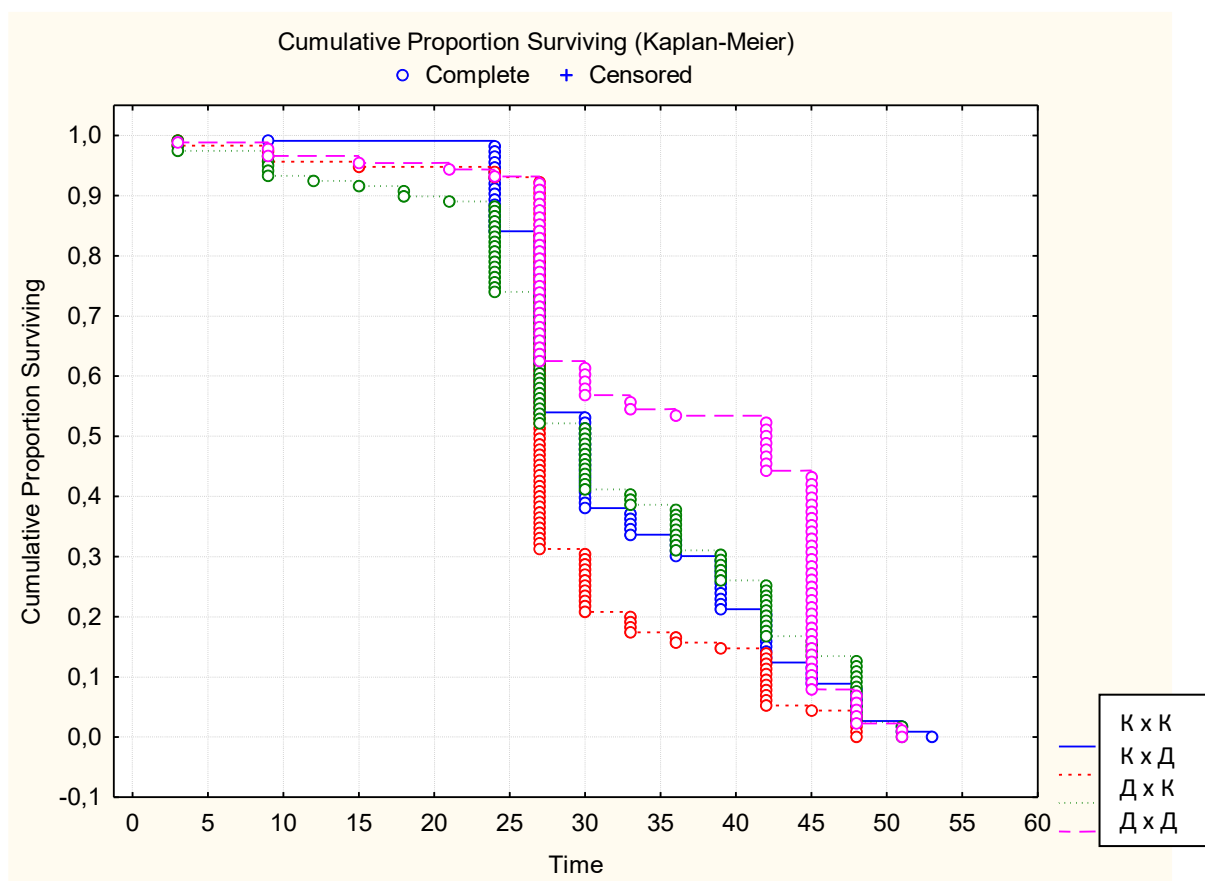


Рис.4. Криві виживання самок різних дослідних груп F1

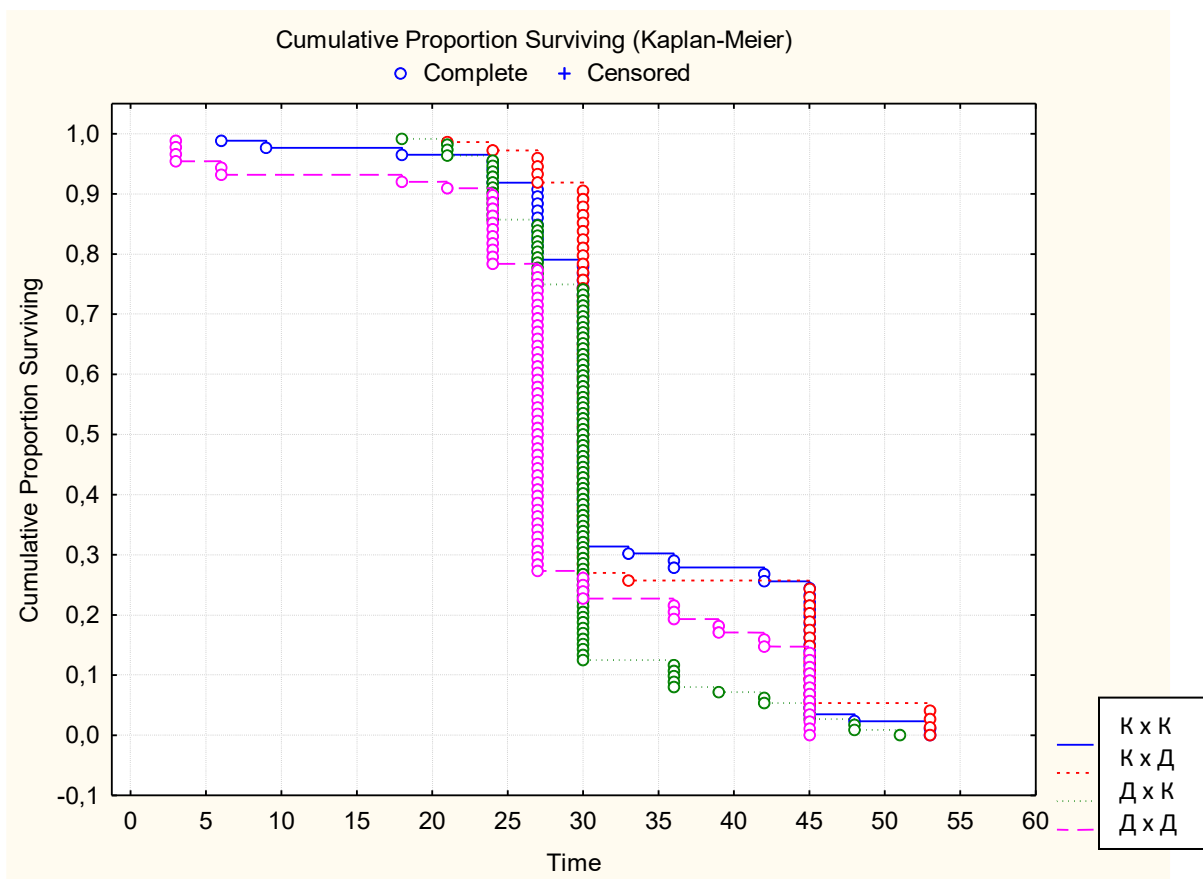


Рис. 5. Криві виживання самців різних дослідних груп F1

Слід відзначити, що основні відмінності динаміки виживання, які спостерігаються між статями та залежно від дієти, на якій утримувались батьки, відбуваються у віці 30 – 45 діб (Рис.4, Рис.5). Якщо тільки мати, або обидві батьківські особини мали дієту підсилену фолієвою кислотою, смертність нащадків жіночої статі в віці 30 – 45 діб нижча, але в той же час вищою є смертність нащадків чоловічої статі за тих самих умов.

Для нащадків, чиї батьки розвивалися на середовищі з додаванням фолієвої кислоти, відмічено відмінності в структурі кривих виживання. Зокрема, спостерігалось зниження смертності серед самок у середньому віковому інтервалі (30–45 діб), тоді як у самців цього покоління навпаки реєструвалось підвищення рівня смертності у тому ж віковому діапазоні.

Отримані результати вказують на те, що фактор фолієвої кислоти, присутній у середовищі розвитку батьківських особин, модифікує

онтогенетичні механізми, що впливають на тривалість життя нащадків, і цей ефект має виражену статеву специфічність.

Отже, можна зробити висновок, що ефект батьківської дієти проявився більш виразно у самок, для яких середня та медіанна тривалість життя збільшилася (до 36,1 діб), тоді як у самців — навпаки, спостерігалось помітне зниження середньої тривалості життя (до 28,6 діб).

Цей результат свідчить про диференційовану реакцію статей на фолієву кислоту, яка, ймовірно, пов'язана з відмінностями у метаболізмі фолатів та регуляції епігенетичних процесів у статевих клітинах.

3.3. Характеристика динаміки виживання імаго *Drosophila melanogaster* лінії *radius incompletus* (F_1)

Аналіз тривалості життя імаго мутантної лінії *radius incompletus Drosophila melanogaster* також показав ефекти, які залежать від статі особин. При цьому як для самок так і для самців виявлені статистично значущі відмінності кривих виживання імаго ($Chi^2_{\text{самки}} = 14,49$; $df = 3$, $p < 0,01$; $Chi^2_{\text{самці}} = 65,75$, $df = 3$, $p < 0,001$) залежно від приналежності до однієї з досліджуваних груп.

Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго різних груп наведені в таблиці 6.

Таблиця 6.

Основні характеристики, які описують тривалість життя імаго різних груп

	самки				самці			
	Median	Mean	Std.Dv.	Total N	Median	Mean	Std.Dv.	Total N
КхК	30	28,91	6,83	127	33	37,19	12,38	116
КхД	30	31,22	7,40	125	36	34,68	9,73	116
ДхК	30	29,38	6,51	120	36	37,76	10,89	123
ДхД	30	28,88	5,46	59	48	46,26	10,07	98

Примітка: Median – медіанний вік (час, до якого доживає 50% популяції / вибірки); Mean – середня тривалість життя (всереднений час від народження до смерті всіх особин популяції / вибірки); Std.Dv. – стандартне відхилення; Total N – кількість особин у вибірці.

Так, самки всіх груп характеризуються однаковим показником медіанної тривалості життя та незначно різними значеннями показника середньої тривалості життя. Отже на ці показники самок вживання фолієвої кислоти одним з батьків чи обома не чинить статистично значущого впливу. Відносно більшою – на три дні - (у порівнянні з представниками

контрольної групи) медіанною тривалістю життя характеризуються самці, одна з батьківських особин яких пройшла повний цикл розвитку на середовищі з додаванням фолієвої кислоти. У нащадків чоловічої статі від батьківських пар, обидва представники яких споживали фолієву кислоту, навпаки, підвищується як медіанна так і так і середня тривалість життя (хоча відмінності останньої не досягають статистичної значущості).

Слід відзначити, що основні відмінності динаміки виживання, які спостерігаються між статями та залежно від дієти, на якій утримувались батьки, відбуваються у віці 25 – 45 діб (Рис.6, Рис.7). Криві виживання самок (Рис. 6) різних досліджуваних груп більш схожі між собою. Ефект дієти – у вигляді кращої виживаності особин з 35 по 43 добу - спостерігається лише для особин, матері яких споживали середовище з надлишком фолієвої кислоти (у порівнянні з іншими групами). Криві виживання самців (Рис. 7) характеризуються відмінностями на більшому проміжку часу, а саме з 27 по 60 добу. Причому найкращу виживаність демонструють самці, батьки яких походять з контрольної групи. А вживання однією чи обома батьківськими особинами надлишку фолієвої кислоти негативно відбивається на тривалості життя нащадків чоловічої статі.

Слід відзначити також, що самки всіх груп характеризуються нижчою, у порівнянні з самцями тривалістю життя, в тому числі максимальною (термін, до якого доживають 10% довгожителів).

Таблиця 7.

Максимальна тривалість життя імаго різних груп (доба)

	самки	самці
КхК	38	56
КхД	38	56
ДхК	43	56
ДхД	38	49

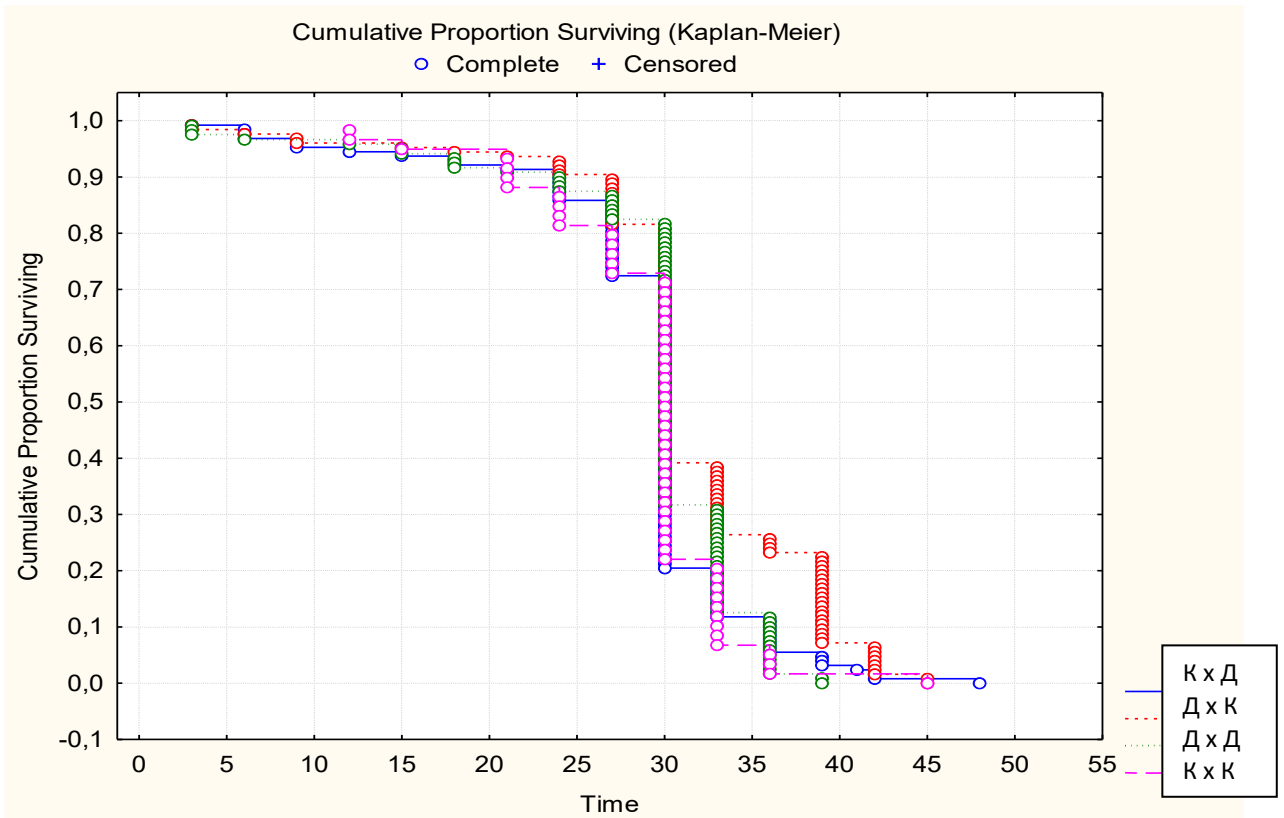


Рис. 6. Криві виживання самок різних дослідних груп F1

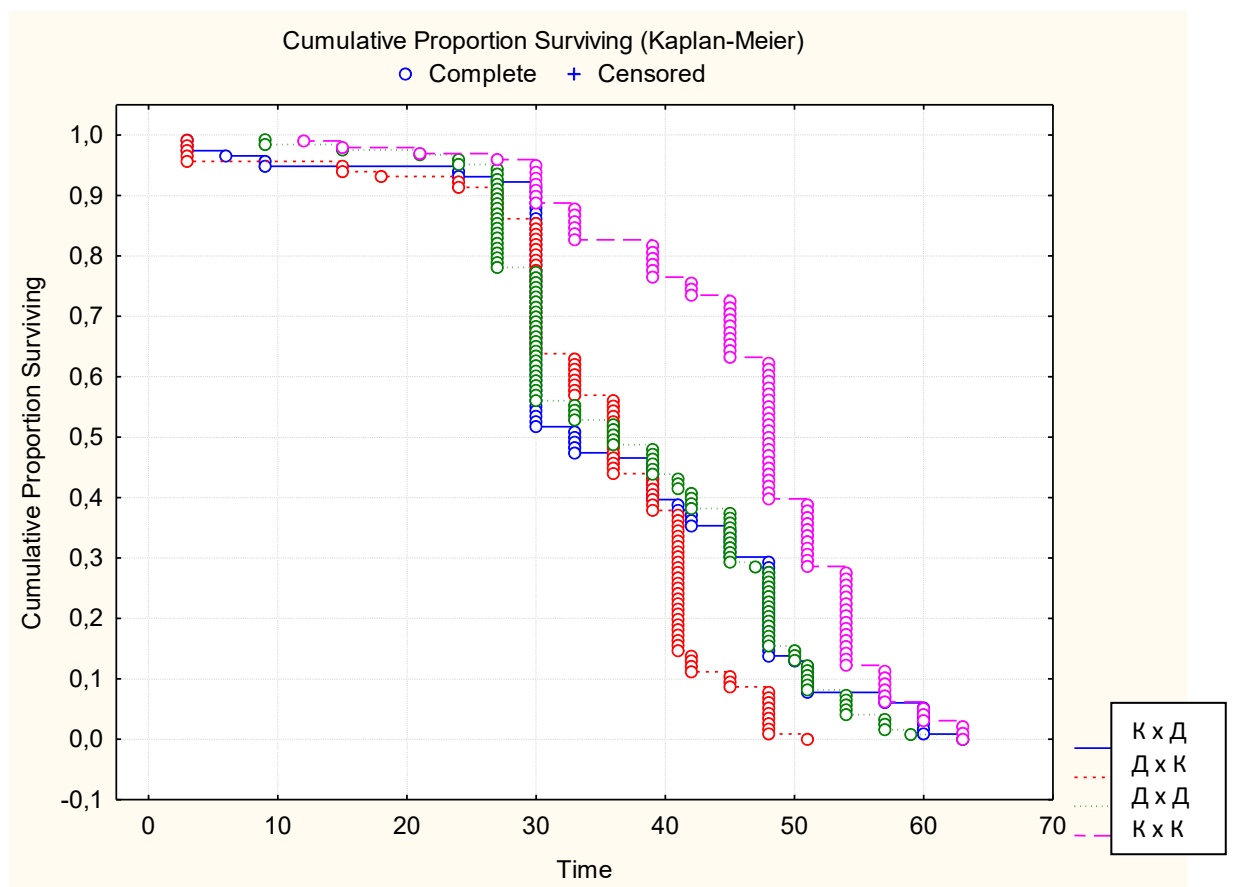


Рис. 7. Криві виживання самців різних дослідних груп F1

У дрозоділи самки часто живуть коротше, ніж самці, через кілька взаємопов'язаних біологічних, екологічних та еволюційних факторів. Самки дрозоділи витрачають значну кількість енергії на виробництво яєць, що може бути фізіологічно складним завданням. Високі метаболічні витрати, пов'язані з оогенезом і відкладанням яєць, можуть скоротити тривалість життя. Слід зазначити, що відкладання яєць відбувається, навіть, якщо не відбувається спарювання. Самці, хоч і витрачають багато енергії на залицяння та спарювання (у випадку нашого дослідження, особини утримувались без можливості спарюватись), зазвичай не стикаються з такими ж енергетичними витратами, як самки на виробництво та відкладання яєць.

Сам процес спарювання може бути стресом і для самок (у випадку нашого дослідження, особини утримувались без можливості спарюватись). Під час спарювання самці виділяють не лише сперму, але й білки допоміжних залоз (АСР), які можуть впливати на фізіологію самок і скорочувати тривалість їхнього життя. Ці білки можуть маніпулювати репродуктивною фізіологією самки на користь сперми самця, але ціною здоров'я самки. Багаторазові спарювання посилюють цей стрес, що призводить до подальшого скорочення тривалості життя. Chapman et al. (1995) продемонстрували це у своїх дослідженнях.

Відмінності в генетичних та фізіологічних особливостях самців і самок можуть сприяти різній тривалості життя. Наприклад, самки можуть бути більш сприйнятливими до певних захворювань або екологічних стресів через свою репродуктивну роль. Система визначення статі та пов'язані з нею регуляторні механізми можуть впливати на тривалість життя через складні взаємодії генів, які по-різному експресуються у самок та самців.

Partridge and Gems (2002) у своїх роботах показали, що підвищена метаболічна активність, яка пов'язана з розмноженням у самок, може призвести до вищого рівня окислювального стресу, пошкодження клітинних

компонентів і прискорення старіння. Самці зазвичай відчують менший оксидативний стрес, оскільки їхня репродуктивна діяльність (виробництво сперми) є менш енергетично затратною.

Існує явище, відоме як статевий конфлікт, коли еволюційні інтереси самок та самців розходяться. Самці можуть розвивати стратегії, які збільшують їхній власний репродуктивний успіх за рахунок жіночого довголіття, наприклад, через шкідливий вплив АСР. Ця еволюційна гонка озброєнь може призвести до скорочення тривалості життя самок внаслідок стратегій чоловіків, спрямованих на покращення власної життєздатності (в сенсі репродуктивного успіху).

Самки можуть мати вищі потреби в харчуванні, щоб підтримувати виробництво яєць. Якщо ці потреби не задовольняються, це може призвести до аліментарного стресу, що ще більше скоротить тривалість їхнього життя. На відміну від них, самці, з їхніми нижчими репродуктивними енергетичними потребами, можуть бути менш схильні до впливу обмежень у харчуванні. Якщо ж подібні потреби самок задовольняються надто достатньо для потенційних нащадків, але токсично для материнського організму, то це може негативно впливати на тривалість життя.

Фактори навколишнього середовища, такі як температура і доступність їжі, можуть по-різному впливати на тривалість життя самців і самок. Самки можуть бути більш чутливими до цих факторів через свою репродуктивну роль і пов'язані з нею енергетичні витрати.

Загалом ще у 1989 році Fowler and Partridge обговорюють у своїй роботі компроміс між репродуктивною активністю і тривалістю життя, і показано, що збільшення репродуктивних зусиль у самок призводить до скорочення тривалості життя.

3.4. Статеві відмінності у впливі фолієвої кислоти на тривалість життя в контексті отриманих результатів

Тривалість життя *Drosophila melanogaster* є складною фенотипічною ознакою з потужною генетичною та фенотипічною варіабельністю. Дослідження останніх років послідовно підтверджують, що як лінійна належність, так і стать істотно впливають на середню й максимально можливу тривалість життя, а також на реакцію на екологічні чинники (температуру, дієту, токсини).

Різні лабораторні лінії (як дикого типу так і мутантні) демонструють стійкі відмінності в середній тривалості життя. Ці відмінності мають поліморфний, полігенний характер: виявлено сотні локусів, що модулюють тривалість життя опосередковано (через метаболізм, репродуктивні інвестиції, стрес-відповідь) або безпосередньо (генні мережі старіння). Серед ключових молекулярних шляхів — інсулін/IGF сигналінг (IIS), mTOR-опосередковані сигнальні шляхи (аутофагічний зокрема), сіртуїни, мітоген-активовані шляхи й антиоксидантні механізми. Висловлюється загальна модель: генетичний фон визначає «базову» тривалість життя і чутливість до модифікуючих факторів.

Відомо, що фолієва кислота бере участь у процесах метилювання ДНК, які можуть змінювати рівень експресії генів без зміни нуклеотидної послідовності. Дослідження на інших модельних організмах показали, що підвищений рівень фолатів у дієті може змінювати епігенетичний профіль гамет, впливаючи на фенотип нащадків (An et al., 2025; Macartney, Crean, Bonduriansky 2022).

Отримані результати для *D. melanogaster* лінії *Canton-S* свідчать, що ефекти екзогенної фолієвої кислоти виявляються не прямо, а через модифікацію геномного регулювання у поколінні F₁. Більш висока тривалість життя у самок може бути наслідком активації репараційних і антиоксидантних систем, тоді як у самців — можливо, надмірне

метилування призводить до зниження експресії генів, пов'язаних зі стресостійкістю та метаболічною стабільністю.

Аналогічні спостереження зафіксовано й в інших роботах: зокрема, Buck et al. (2000) показали, що підвищення життєздатності покоління може поєднуватися зі зменшенням загальної репродуктивної здатності або адаптивної гнучкості. Таким чином, виявлені відмінності можуть відображати компроміс між тривалістю життя та іншими життєвими параметрами, що є типовим проявом плейотропії генів, залучених до контролю старіння.

Батьківський вплив фолієвої кислоти не є нейтральним — він змінює тривалість життя нащадків, і цей ефект відрізняється між статями. У самок, походженням від пар, що споживали фолієву кислоту, спостерігається подовження життя, тоді як у самців — скорочення. Вплив може мати епігенетичну природу, пов'язану з модифікацією патернів метилування ДНК або посттрансляційних змін гістонів. Отримані результати узгоджуються з сучасними уявленнями про генетико-епігенетичну регуляцію старіння (Piper & Partridge, 2005; Zehm & Thornton, 2013).

Система *Drosophila* показує послідовні відмінності між самцями й самками: в різних лініях, або за різних умов одна зі статей може жити довше — залежно від еволюційної історії, репродуктивної стратегії й лабораторних умов. Типові пояснення включають: 1. (репродуктивні витрати) самки інвестують у яйцекладку й мають змінні енергетичні витрати; у деяких умовах це скорочує їхній ресурс для соматичної підтримки, але в інших контекстах домінуючим є самець-витрата, пов'язана з інвестиціями в пошук партнерів; 2. (сексуальний конфлікт і парування) часті спаровування та вплив компонентів сім'яної рідини (наприклад, певних білків) зменшують тривалість життя самок; одночасно відмінності в поведінкових патернах (активність, пошук партнерів) впливають на ризик і метаболічні витрати у самців; 3. (генетично обумовлена стрес-толерантність) деякі варіанти генів

забезпечують кращу витривалість до оксидативного/термального стресу у певної статі.

Механізми, що пояснюють варіацію між лініями та статями також достатньо різноманітні. Слід зазначити наступні ключові.

IIS / TOR-шляхи — модулюють ріст, репродукцію й тривалість життя; їх регуляція відрізняється між лініями і між статями (рівні інсуліноподібних пептидів, рецепторна чутливість).

Мітохондріально-ядерні взаємодії — материнська передача мітохондрій може створювати статево-специфічні ефекти (mother's curse), коли мутації в мітохондріях негативніші для самців.

Стать-залежна експресія генів — транскриптомні дослідження показують, що рівень експресії сотень генів у старіючих мух різниться між статями, включаючи окислювальний стрес, запальні реакції й репарацію ДНК.

Епігенетична регуляція — зміни в хроматиновому стані й метилуванні (у *Drosophila* інші механізми епігенетичної регуляції) можуть пояснювати міжлінійну пластичність і трансреляційні ефекти.

Важливо, що відмінності між лініями і статями не фіксовані: вони піддаються значній G×E-модифікації. Наприклад, певні лінії демонструють сильне скорочення життя при бідному харчуванні, інші — більш стійкі; схожі закономірності спостерігаються при експозиції температурних стресів або токсинів. Отже, при порівнянні ліній і статей обов'язково контролювати середовищні умови.

Таким чином, беручи до уваги отримані нами дані та інформацію, наявну в публікаціях інших дослідників можна сформулювати певні експериментальні та методологічні зауваги. Стандартизація умов (температура, харчування, щільність) є критичною для досліджень тривалості життя дрозофіл. Без цього міжлінійна варіабельність може віддзеркалювати лише реакцію на лабораторні умови. Не менш важливим є вплив парування. Статеві контакти й репродуктивну активність слід

контролювати або окремо аналізувати. Повторюваність та популяційний контекст: результати, отримані на одній лінії не завжди переносяться на інші, а тим паче на природні реальні популяції.

Окремо варто зазначити деякі практичні висновки та рекомендації для дослідника.

1. В експеримент варто брати для порівняння щонайменше дві–три лінії, щоб відрізнити загальні закономірності від штам-специфічних.
 2. Утримувати упродовж експерименту самців і самиць варто окремо, аналізувати дані по самцям і самкам теж варто окремо, а фактор «спаровування/ізоляція» можна використовувати як змінну.
 3. По можливості слід враховувати потенціал мітохондріально-ядерних взаємодій застосовуючи возвратні схрещування.
 4. По можливості слід поєднувати фенотипічні вимірювання (lifespan, reproductive output, stress tolerance) з молекулярними (IIS, TOR, антиоксидантні маркери) для інтеграції механізмів.
 5. Слід використовувати факторний аналіз (лінія $\times$ стать $\times$ середовище) і моделі змішаних ефектів для коректного розподілу варіації.
-

ВИСНОВКИ

- 1) Для імаго лінії дикого типу *Canton-S Drosophila melanogaster* встановлені залежні від статі ефекти на показники, що характеризують тривалість життя, в умовах споживання/не споживання самими особинами та/або їхніми батьками додаткової фолієвої кислоти.
- 2) Для нащадків жіночої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидва або тільки материнська особина) виявлено нижчий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з відповідною контрольною групою.
- 3) Для нащадків чоловічої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидва або тільки материнська особина) виявлено вищий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з відповідною контрольною групою.
- 4) Для імаго лінії *radius incompletus Drosophila melanogaster* встановлені залежні від статі ефекти на показники, що характеризують тривалість життя, в умовах споживання/не споживання батьками додаткової фолієвої кислоти.
- 5) Для нащадків жіночої статі від матерів, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти, виявлено нижчий рівень смертності в віці 30 – 43 діб у порівнянні з іншими досліджуваними групами.
- 6) Для нащадків чоловічої статі від батьків, які розвивались на середовищі з додаванням фолієвої кислоти (обидві або тільки одна з батьківських особина) виявлено вищий рівень смертності в віці 30 – 45 діб у порівнянні з контрольною групою.
- 7) Самці всіх досліджуваних груп характеризуються більшим показником максимальної тривалості життя порівняно з відповідними групами самок.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., Scherer, S. E., Li, P. W., Hoskins, R. A., Galle, R. F., George, R. A., Lewis, S. E., Richards, S., Ashburner, M., Henderson, S. N., Sutton, G. G., Wortman, J. R., Yandell, M. D., Zhang, Q., Chen, L. X., ... Venter, J. C. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science (New York, N.Y.)*, 287(5461), 2185–2195. <https://doi.org/10.1126/science.287.5461.2185>
2. Misra, S., Crosby, M. A., Mungall, C. J., Matthews, B. B., Campbell, K. S., Hradecky, P., Huang, Y., Kaminker, J. S., Millburn, G. H., Prochnik, S. E., Smith, C. D., Tupy, J. L., Whitfield, E. J., Bayraktaroglu, L., Berman, B. P., Bettencourt, B. R., Celniker, S. E., de Grey, A. D., Drysdale, R. A., Harris, N. L., ... Lewis, S. E. (2002). Annotation of the *Drosophila melanogaster* euchromatic genome: a systematic review. *Genome biology*, 3(12), RESEARCH0083. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-12-research0083>
3. Yamaguchi, S., Wolf, R., Desplan, C., & Heisenberg, M. (2008). Motion vision is independent of color in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(12), 4910–4915. <https://doi.org/10.1073/pnas.0711484105>
4. Lyko, F., Beisel, C., Marhold, J., Paro, R. (2006). Epigenetic Regulation in *Drosophila*. In: Doerfler, W., Böhm, P. (eds) DNA Methylation: Development, Genetic Disease and Cancer. Current Topics in Microbiology and Immunology, vol 310. Springer, Berlin, Heidelberg . https://doi.org/10.1007/3-540-31181-5_3
5. Iliadi, K. G., & Boulianne, G. L. (2010). Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1197, 9–18. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05372.x>
6. Piper, M. D., Skorupa, D., & Partridge, L. (2005). Diet, metabolism and lifespan in *Drosophila*. *Experimental gerontology*, 40(11), 857–862. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.06.013>

7. Tatar, M., Kopelman, A., Epstein, D., Tu, M.-P., Yin, C.-M., & Garofalo, R. S. (2001). A mutant *Drosophila* insulin receptor homolog that extends life-span and impairs neuroendocrine function. *Science*, 292(5514), 107–110. <https://doi.org/10.1126/science.1057987>
8. Bjedov, I., Toivonen, J. M., Kerr, F., Slack, C., Jacobson, J., Foley, A., & Partridge, L. (2010). Mechanisms of life span extension by rapamycin in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Cell Metabolism*, 11(1), 35–46. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2009.11.010>
9. Frankel, S., Ziafazel, T., & Rogina, B. (2011). dSir2 and longevity in *Drosophila*. *Experimental gerontology*, 46(5), 391–396. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2010.08.007>
10. Arking, R. (1995). Antioxidant genes and other mechanisms involved in the extended longevity of *Drosophila*. In: Cutler, R.G., Packer, L., Bertram, J., Mori, A. (eds) *Oxidative Stress and Aging. Molecular and Cell Biology Updates*. Birkhäuser Basel. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7337-6_14
11. Boros I. M. (2012). Histone modification in *Drosophila*. *Briefings in functional genomics*, 11(4), 319–331. <https://doi.org/10.1093/bfpg/els029>
12. Fanson, B. G., & Taylor, P. W. (2012). Protein:carbohydrate ratios explain life span patterns found in Queensland fruit fly on diets varying in yeast:sugar ratios. *Age (Dordrecht, Netherlands)*, 34(6), 1361–1368. <https://doi.org/10.1007/s11357-011-9308-3>
13. Begg M., Robertson F. W. (1950) The Nutritional Requirements of *Drosophila Melanogaster*. *J Exp Biol*; 26 (4): 380–387. doi: <https://doi.org/10.1242/jeb.26.4.380>
14. Garrido-Maraver, J., Celardo, I., Costa, A.C. *et al.* Enhancing folic acid metabolism suppresses defects associated with loss of *Drosophila* mitofusin. *Cell Death Dis* 10, 288 (2019). <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1496-2>
15. Lucock M. (2000). Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Molecular genetics and metabolism*, 71(1-2), 121–138. <https://doi.org/10.1006/mgme.2000.3027>

16. Salbaum, J. M., & Kappen, C. (2012). Genetic and epigenomic footprints of folate. *Progress in molecular biology and translational science*, 108, 129–158. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398397-8.00006-X>
17. Crider, K. S., Yang, T. P., Berry, R. J., & Bailey, L. B. (2012). Folate and DNA methylation: a review of molecular mechanisms and the evidence for folate's role. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)*, 3(1), 21–38. <https://doi.org/10.3945/an.111.000992>
18. Burdge, G. C., & Lillycrop, K. A. (2010). Nutrition, epigenetics, and developmental plasticity: implications for understanding human disease. *Annual review of nutrition*, 30, 315–339. <https://doi.org/10.1146/annurev.nutr.012809.104751>
19. An, Y., Wang, Q., Gao, K., Zhang, C., Ouyang, Y., Li, R., Ma, Z., Wu, T., Zhou, L., Xie, Z., Zhang, R., & Wu, G. (2025). Epigenetic Regulation of Aging and its Rejuvenation. *MedComm*, 6(9), e70369. <https://doi.org/10.1002/mco2.70369>
20. Macartney, E. L., Crean, A. J., & Bonduriansky, R. (2022). Parental dietary protein effects on offspring viability in insects and other oviparous invertebrates: a meta-analysis. *Current research in insect science*, 2, 100045. <https://doi.org/10.1016/j.cris.2022.100045>
21. Buck, S., Vettraino, J., Force, A.G. & Arking, R. (2000) Extended longevity in *Drosophila* is consistently associated with a decrease in larval viability. *Journal of Gerontology*, 55, 292–301
22. Ziehm, M., Piper, M. D., & Thornton, J. M. (2013). Analysing variation in *Drosophila* aging across independent experimental studies: a meta-analysis of survival data. *Aging cell*, 12(5), 917–922. <https://doi.org/10.1111/accel.12123>
23. Öztürk-Çolak A., Marygold S. J., Antonazzo G., et al, FlyBase Consortium, FlyBase: updates to the *Drosophila* genes and genomes database, *Genetics*, Volume 227, Issue 1, May 2024, iyad211, <https://doi.org/10.1093/genetics/iyad211>

24. Therneau T (2024). *A Package for Survival Analysis in R*. R package version 3.8-3, <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
25. Cox, D. R. (1972). Regression Models and Life-Tables. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Methodological)*, 34(2), 187–202. doi:10.1111/j.2517-6161.1972.tb00899.x
26. Aiello, G. et al. (2022). Transient rapamycin treatment during developmental stage extends lifespan in *Mus musculus* and *Drosophila melanogaster*. *EMBO Reports*, 23, EMBR202255299. <https://doi.org/10.15252/embr.202255299>
27. Linford, N. J., Bilgir, C., Ro, J., & Pletcher, S. D. (2013). Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments*, (71), 50068. <https://doi.org/10.3791/50068>
28. Annibal, A., Tharyan, R. G., Schonewolff, M. F., Tam, H., Latza, C., Auler, M. M. K., Grönke, S., Partridge, L., & Antebi, A. (2021). Regulation of the one carbon folate cycle as a shared metabolic signature of longevity. *Nature communications*, 12(1), 3486. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-23856-9>
29. Fardous, A. M., & Heydari, A. R. (2023). Uncovering the Hidden Dangers and Molecular Mechanisms of Excess Folate: A Narrative Review. *Nutrients*, 15(21), 4699. <https://doi.org/10.3390/nu15214699>
30. Blatch, S., Meyer, K. W., & Harrison, J. F. (2010). Effects of dietary folic acid level and symbiotic folate production on fitness and development in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Fly*, 4(4), 312–319. doi:10.4161/fly.4.4.13258