

На правах рукописи



КОСТЕНКО ВИКТОРИЯ ВИКТОРОВНА

**РОЛЬ РАЗЛИЧНЫХ АЛЛЕЛЕЙ ВЫСОКОПЛЕЙОТРОПНОГО ГЕНА
white В ФОРМИРОВАНИИ ПРИЗНАКОВ ПРИСПОСОБЛЕННОСТИ И
ПОВЕДЕНИЯ *Drosophila melanogaster***

03.02.07 – Генетика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Казанский (Приволжский) федеральный университет».

Научный руководитель: Кандидат биологических наук, доцент кафедры генетики Казанского (Приволжского) федерального университета
Бабынин Эдуард Викторович

Официальные оппоненты: Доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией нейрогенетики Института физиологии им. И.П. Павлова Российской Академии Наук
Савватеева-Попова Елена Владимировна;

Доктор биологических наук, профессор, заместитель директора по научной работе Петербургского института ядерной физики им. Б.П. Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт», заведующая лабораторией экспериментальной и прикладной генетики ПИЯФ им. Б.П. Константинова НИЦ «Курчатовский институт»
Саранцева Светлана Владимировна

Ведущая организация: Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук – обособленное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр «Коми научный центр Уральского отделения Российской академии наук».

Защита диссертации состоится «17» мая 2019 года в 14:00 часов на заседании диссертационного совета КФУ.03.02. при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н.И. Лобачевского при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: (420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 35).

Электронная версия автореферата размещена на официальном сайте ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» <http://www.kpfu.ru>.

Автореферат разослан « ____ » _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
Кандидат биологических наук



О.А. Кравцова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Ген *white* дрозофилы, открытый в 1910 году Томасом Хантом Морганом уже более века является классическим предметом генетических исследований. Для гена *white* (CG2759) установлена множественная аллельная структура и на сегодня выявлено более 2000 аллельных вариантов. Известно, что основу возникновения аллелей составляют единичные нуклеотидные замены, а также делеции и инсерции посредством мобильных генетических элементов. Результат таких изменений в нуклеотидной последовательности гена *white* проявляется в широкой фенотипической вариабельности пигментации глаз: от полной депигментации до окрашенных в темно-коричневый цвет. Мутации в гене *white* часто идентифицируют при изучении генетической структуры популяций дрозофил, полученных из природных выборок.

Для гена *white* дрозофилы установлено влияние на признаки поведения у, таких как фото- и геотаксис, двигательная активность, половое поведение и агрессия (Zhang, Odenwald, 1995; Anaka et al., 2008; Lee et al., 2008). Кроме того, мутации в гене *white* приводят к возникновению неврологических фенотипов, а именно устойчивость к анестезии (Campbell and Nash, 2001), изменения в периоде восстановления локомоции после аноксии (Xiao and Robertson, 2016), нарушение обонятельного и пространственного обучения (Diegelmann et al. ., 2006; Anaka et al., 2008; Sitaraman et al., 2008), гиперчувствительность к этанолу (Chan et al., 2014) и к некоторым тактильным стимулам (Titlow et al., 2014).

В то время как молекулярно-генетические исследования гена *white* достаточно развиты, его роль в формировании приспособленности и поведения на популяционном уровне остается слабо изученной. Есть основания полагать, что мутации в гене *white* с выраженным фенотипическим проявлением будут изменять характер формирования признаков приспособленности и поведения таким же образом, как и проявление интенсивности пигментации глаз.

В этой связи важным вопросом является установление генетических механизмов влияния гена *white* на формирование приспособительных реакций. Поэтому изучение признаков приспособленности и поведения в линиях *Drosophila melanogaster* с использованием комплексных исследований даст возможность выявить характер и долю взаимовлияния генетических и средовых факторов, определяющих развитие отдельного организма и популяции в целом.

Известно, что признаки приспособленности и поведения находятся под единым генетическим контролем и являются эволюционно консервативными. Обнаруженные у дрозофилы гены, гомологичные генам большинства эукариот, позволяют использовать данный модельный объект для изучения генетических механизмов, лежащих в основе формирования приспособительных и поведенческих реакций. Таким образом, анализ

подобных генов даст возможность понять общие закономерности генетического контроля данных признаков у многоклеточных организмов.

Цель работы:

Целью настоящего исследования является определение влияния различных аллелей высокоплейотропного гена *white* на формирование признаков приспособленности и поведения имаго *Drosophila melanogaster*.

Задачи исследования:

- 1) Изучить влияние аллелей гена *white* на показатели приспособленности: процент летальных мутаций на стадиях эмбриогенеза и метаморфоза, жизнеспособность и плодовитость, продолжительность жизни;
- 2) Провести анализ влияния аллелей гена *white* на показатели поведения: локомоторная активность и компоненты полового поведения;
- 3) Оценить влияние мутантных аллелей гена *white* на признаки приспособленности и поведения в зависимости от возрастных особенностей организма;
- 4) Оценить влияние мутантных аллелей гена *white* на признаки приспособленности и поведения дрозофилы в зависимости от гомо- и гетерозиготности генетического фона.

Научная новизна

Впервые на одном и том же генетическом материале проведено комплексное исследование взаимосвязи аллельного состояния гена *white* и адаптивно важных признаков приспособленности и поведения на различном генетическом фоне и под влиянием онтогенетических (возраст имаго) факторов. Выявлены статистически значимые закономерности влияния мутантных аллелей гена *white* на формирование количественных признаков общей приспособленности и поведения дрозофилы. Показано, что характер изменения признаков зависит от аллельного состояния гена *white*. Впервые выявлены корреляционные связи между степенью пигментации глаз имаго дрозофилы и признаками приспособленности и поведения. Впервые проанализированы связи между количественными адаптивно важными признаками поведения и показателями общей приспособленности. Установлено, что возрастная изменчивость признаков приспособленности мутантов по гену *white* определяется изменением активности щелочной фосфатазы, регулирующей работу гормонов эндокринной системы, и участвующей в контроле морфогенетических процессов развития насекомых. Впервые показано, что исследуемые аллели гена *white* в процессе старения характеризуются гистолого-анатомическими изменениями структур головного мозга, которые контролируют формирование поведенческих реакций: локомоция, обучение и память.

Научно-теоретическое и практическое значение

Проведенное генетическое исследование влияния различных аллельных вариантов гена *white* в контроле формирования признаков общей приспособленности и поведения позволит в дальнейшем корректно подбирать маркерные мутации, с учетом их индивидуальной

приспособленности, для создания жизнеспособных трансгенных линий дрозофил. Выявленные изменения признаков локомоторного и полового поведения, связанные со старением, а также обнаруженные нейродегенеративные нарушения структур грибовидных тел и центрального комплекса, а также дегенерация ретины позволит использовать мутантные аллели гена *white* дрозофилы в качестве модели для изучения нейропатологий человека, ассоциированных со старением.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Мутантные аллели высокоплейотропного гена *white* оказывают разнонаправленное влияние на признаки общей приспособленности и поведения имаго дрозофилы.
2. Интенсивность пигментации глаз коррелирует с признаками приспособленности и поведения, но направление корреляции зависит от генетического фона.
3. Паттерн локомоторной активности имаго отражает характер формирования признаков приспособленности.
4. Мутации в гене *white* приводят к нарушению нейроэндокринной системы, что отражается в угнетении признаков приспособленности и поведения на начальных этапах старения имаго.

Личный вклад соискателя

Подбор и анализ литературы по теме исследования проведен автором самостоятельно. Определение общих концепций и частных задач исследования, а также обсуждение осуществляли вместе с научным руководителем. Экспериментальная часть, интерпретация полученных результатов и статистический анализ данных, а также написание текста диссертации и оформление работы выполнены автором лично.

Апробация работы

Основные положения диссертационной работы были представлены на научных конференциях: II Міжнародна конференція «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології» (Одеса, 2010); IX съезд Украинского общества генетиков и селекционеров им. Н.И. Вавилова (Алушта, 2012); V Всероссийская конференция по поведению животных (Москва, 2012); VIII Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2013); VIII Міжнародна конференція молодих учених «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2013); XX Международная научно-практическая конференция «Европейская наука XXI века – 2014» (Przemysl, 2014); IV Міжнародна конференція «Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології» (Львів, 2014); Международная научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные научные исследования» (Екатеринбург, 2015); XI East European Conference of the International Society for Invertebrate neurobiology «Simple Nervous Systems» (Zvenigorod, 2016); Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 40-летию кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии Казанского университета «Актуальные проблемы

современной генетики» (Казань, 2016); Всероссийская конференция «Дрозофила в генетике и медицине» (Гатчина, 2017); 71-я Всероссийская школа-конференция с международным участием молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (Нижний Новгород, 2018); International conference: Interventions to extend healthspan and lifespan (Kazan, 2018); XIV Международный Междисциплинарный Конгресс «Нейронаука для медицины и психологии» (Судак, 2018); 52nd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation “Precision medicine for healthy ageing” (Barcelona, Spain, 2018); III Международная научная конференция, посвященная памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора В. В. Шилкина (Ярославль, 2018).

Публикации результатов исследования

Основные положения, представленные в диссертационной работе, опубликованы в 26 научных статьях, из которых 9 – в рецензируемых изданиях, в том числе рекомендованных ВАК РФ, и 17 – тезисы докладов, представленных на научных Международных и Всероссийских конференциях.

Структура и объем диссертационной работы

Диссертационная работа изложена на 179 страницах печатного текста и состоит из разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты исследования, обсуждение, заключение, выводы и список цитируемой литературы. Список цитированной литературы включает 305 источников, в том числе 272 зарубежных работы. Работа иллюстрирована 33 таблицами и 49 рисунками.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Линии *D.melanogaster* и условия культивирования. В работе использованы 4 линии, содержащие мутации в гене *white*: $white^1$ (w^1), $white^{tinged}$ (w^t), $white^{apricot}$ (w^a) и $white^{satsuma}$ (w^{sat}), которые были предоставлены сотрудниками кафедры генетики СПбГУ. Выбранные линии характеризуются различиями в уровне пигментации глаз и фенотипическую экспрессию можно выразить как $w^1 < w^t < w^a < w^{sat}$. Для того чтобы корректно оценить вклад каждого из исследуемых аллелей гена *white* предварительно были проведены насыщающие скрещивания с линиями дикого типа *Canton-S* (*C-S*) и *Oregon* (*Or*). В результате 6 циклов были получены линии M_{C-S} (w^1_{C-S} ; w^t_{C-S} ; w^a_{C-S} ; w^{sat}_{C-S}) и M_{Or} (w^1_{Or} ; w^t_{Or} ; w^a_{Or} ; w^{sat}_{Or}), выровненные по генотипу и имеющие соответственно генетический фон от линий дикого типа. Мух культивировали в стандартных условиях на сахарно-дрожжевой среде при 24°C в термостате. Для выявления роли мутантных аллелей гена *white* в зависимости от генетического фона было проведено два эксперимента: анализ гомозиготности и гетерозиготности генетического фона. В первом случае результат достигался за счет выведения генов 2-ой и 3-ей хромосом в гомозиготное состояние путем метода изогенизации с использованием

тестерной линии $Cy/Pm;D/Sb$, а во втором – путем получения рецiproкных гибридов первого поколения ($M_{C-S} \times M_{Or}$ и $M_{Or} \times M_{C-S}$). Возрастные изменения признаков приспособленности и поведения в линиях с мутациями w^l , w^t , w^a , w^{sat} изучали в процессе естественного старения (онтогенез) в течение первых 20-ти дней жизни имаго, а также анализировали формирование исследуемых признаков у потомков F_1 , полученных от стареющих родителей 10-ти и 20-ти дневного возраста. Особи 3-х дневного возраста были приняты нами за контрольную группу.

Методы учета признаков приспособленности дрозофилы. Приспособленность линий, содержащих мутации в гене *white* оценивали по признакам: плодовитость, жизнеспособность, частота эмбриональной и предимагинальной стадий развития, продолжительность жизни. В качестве критерия изменений, происходящих в гаметях имаго, использовали показатель частоты доминантных летальных мутаций (ДЛМ) на ранних стадиях эмбриогенеза. Проводили учёт ДЛМ по следующим параметрам: белые яйца - ранние летали (первые 17 часов эмбрионального развития); жёлтые и коричневые - поздние летали. Частоту доминантных летальных мутаций определяли как соотношение неразвившихся яиц к общему числу яиц. Для каждого варианта эксперимента было выполнено по 5 измерений. Смертность на стадии куколки оценивали по количеству (в процентах от их общего количества), не вышедших на момент завершения периода выхода имаго из пупариев в потомстве пяти родительских пар. При этом предимагинальную гибель оценивали по изменению морфологии куколки. Плодовитость линий определяли как среднее количество куколок в потомстве от пяти родительских пар. Фиксировали общее количество потомков на стадии куколки. Результат усредняли и пересчитывали на 1 родительскую пару. Всего в эксперименте по изучению плодовитости было проанализировано 54166 куколок, полученных от 890 самок. В своей работе мы руководствовались определением жизнеспособности как вероятности дожития особей с определённым генотипом до репродуктивного возраста. Всего в эксперименте по изучению жизнеспособности было проанализировано 43285 потомков, полученных от 1742 родительских пар. Анализ продолжительности жизни имаго определяли по средней ПЖ, медианной ПЖ и максимальной ПЖ, а также строили кривые дожития.

Анализ поведения имаго дрозофилы. Локомоторную активность (ЛА) имаго дрозофилы оценивали индивидуально по методике открытого поля. Тест проводили для самок и самцов. Всего в экспериментах по анализу ЛА было использовано 4500 самок и 4500 самцов. Половую активность (ПА) самцов и половую рецептивность (ПР) самок определяли по количеству самцов и самок в соответствующем тесте, осуществивших спаривание в течение 60 мин. Длительность копуляции измеряли от момента начала акта копуляции до его завершения. Задержку копуляции определяли как время от момента помещения особей в тестерную камеру до вступления пары в копуляцию. Учитывались все пары, вступившие в копуляцию. В вариантах, в

которых ни одна пара не вступила в копуляцию, длительность копуляции принималось за «0», а задержку копуляции за «60 мин». Всего в экспериментах по анализу полового поведения было использовано 1000 самок и 1000 самцов.

Анализ активности щелочной фосфатазы: уровень активности ЩФ определяли согласно методике, описанной в работе (Vogomolova, 2010).

Анализ стадий оогенеза: яичники препарировали с использованием стереоскопического микроскопа МСП-2 на предметных стеклах в капле физиологического раствора. Чтобы идентифицировать стадии развития ооцита проводили окраску 5% ацетооресеином в течение 5 минут. Далее смотрели под микроскопом и подсчитывали количество ооцитов каждой стадии созревания.

Гистологический анализ головного мозга дрозофил проводили путем приготовления парафиновых срезов (толщина 7мкм), окрашенные гематоксилин-эозином. Отношение потерянной площади было рассчитано путем деления суммы площадей вакуолей от всех участков на общую площадь мозга во всех срезах. В работе было проанализировано по 3 особи каждого генотипа, при этом изучалось не менее 15 срезов на каждый мозг (Sarantseva S., et al., 2009).

Статистическая обработка результатов

Использовали методы статистического анализа: дисперсионный анализ количественных признаков; силу влияния (η^2) оценивали по методу М. Снедекора; для оценки корреляционных связей между признаками использовали коэффициент корреляции рангов К.Спирмена (r_s); сравнение групп проводили при помощи критерия Бонферрони и Стьюдента; анализ выживаемости оценивали с применением критерия Мантела-Кокса. При выполнении расчетов использовали программное обеспечение STATISTICA 6.0., GraphPad Prism 6.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Характеристика адаптивно важных признаков приспособленности у мутантов по гену white Drosophila.

Потенциал адаптивной способности особей определяется генетической гетерогенностью популяции, одной из основных составляющих которой является множественный аллелизм. Количество потомков, оставленных одной парой особей, зависит от плодовитости родителей и жизнеспособности потомков на всех стадиях развития: эмбриональной, личиночной, куколочной.

Адаптивно важные признаки приспособленности у мутантов с аллелями w^l , w^t , w^a , w^{sat} оценивали по изменению плодовитости, жизнеспособности, доле погибших особей на эмбриональной (ранние и поздние ДЛМ) и куколочной стадиях (ГСМ) развития (табл.1.).

Таблица 1.

Вклад аллелей локуса *white* у выровненных по генотипу линий в контроль адаптивно важных признаков приспособленности у *D.melanogaster*

Генотип	Жизнеспособность		Плодovitость	% леталей на стадии куколки	рДЛМ	пДЛМ
	самки	самцы				
<i>C-S</i>	36.6 ± 1.5	35.5 ± 1.3	81.6 ± 3.2	54.0 ± 1.2	3.8 ± 0.8	0.2 ± 0.1
<i>Or</i>	41.8 ± 0.7	44.8 ± 0.7	98.2 ± 1.5	26.6 ± 1.1	7.5 ± 1.5	3.6 ± 0.8
<i>w_{C-S}</i>	27.4 ± 1.1	29.2 ± 1.1	72.6 ± 1.9	47.2 ± 3.1	11.4 ± 0.8	4.1 ± 0.5
<i>w^l_{C-S}</i>	26.6 ± 1.4	23.0 ± 1.4	48.6 ± 2.7	29.0 ± 1.6	22.3 ± 4.4	5.3 ± 1.5
<i>w^a_{C-S}</i>	26.8 ± 0.5	28.6 ± 0.7	73.6 ± 1.4	49.0 ± 2.4	13.9 ± 2.8	2.6 ± 0.7
<i>w^{sat}_{C-S}</i>	33.1 ± 0.9	35.6 ± 1.0	92.4 ± 2.3	51.6 ± 1.9	14.1 ± 0.5	2.5 ± 0.6
<i>w_{or}</i>	37.8 ± 0.8	32.8 ± 0.6	87.2 ± 1.7	36.4 ± 1.8	1.7 ± 0.7	1.4 ± 0.6
<i>w^l_{or}</i>	27.0 ± 0.8	25.8 ± 0.6	66.4 ± 1.9	38.4 ± 2.3	9.6 ± 2.2	4.1 ± 1.0
<i>w^a_{or}</i>	41.2 ± 0.9	33.2 ± 0.7	95.6 ± 1.8	43.4 ± 1.7	2.1 ± 0.9	0.5 ± 0.2
<i>w^{sat}_{or}</i>	27.0 ± 0.9	24.4 ± 1.0	62.4 ± 2.0	36.8 ± 2.6	2.2 ± 1.0	2.4 ± 1.2

На основании полученных результатов сравнительного анализа влияния мутантных аллелей гена *white* на эмбриональное развитие дрозофилы (рис.1.) можно заключить, что наличие в генотипе мутантных аллелей *w^l*, *w^t*, *w^a*, и *w^{sat}* на генетическом фоне *C-S* приводит к существенной эмбриональной гибели в период как раннего (0 – 17.5 ч.) так и позднего (17.5 – 24 ч.) эмбриогенеза. По сравнению с контролем *C-S* смертность увеличивается в среднем на 75% для рДЛМ и на 90% для пДЛМ.

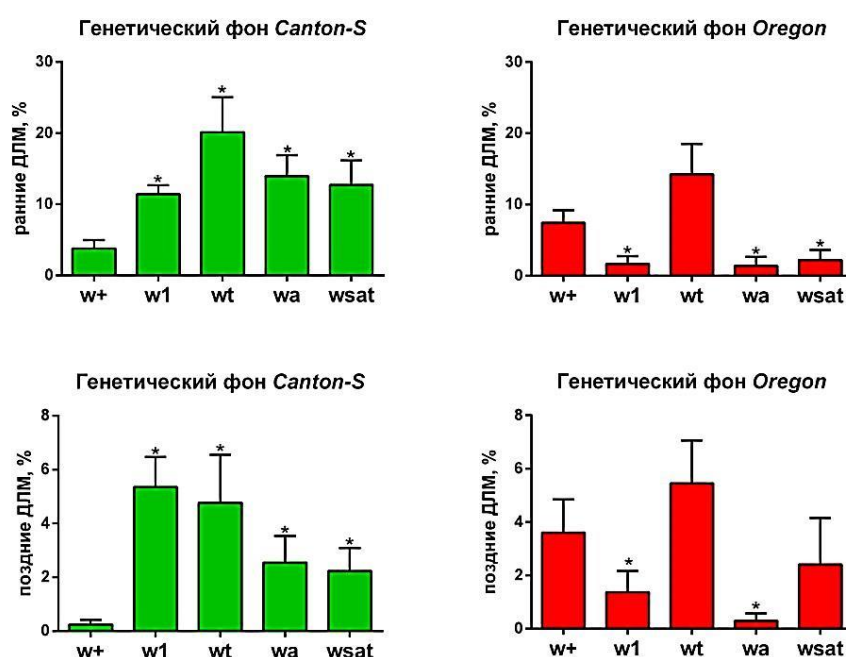


Рисунок 1. Зависимость ранних и поздних эмбриональных летальных мутаций от аллельного состояния гена *white*.

*- достоверное отличие от контроля *w⁺* ($p < 0.05$).

Влияние мутантных аллелей гена *white* на общую плодовитость на генетическом фоне дикого типа *Canton-S* показал, что имаго со слабой пигментацией глаз (СПГ) w^l , w^t , w^a оказывают негативное влияние на плодовитость по сравнению с контролем (w^+) и особями с интенсивной пигментацией глаз (ИПГ) w^{sat} . Для линий с аллелями w^l , w^t , w^a на генетическом фоне *Oregon* показано увеличение плодовитости в эксперименте по сравнению с данными, полученными в линиях на фоне *C-S*, а также отмечено увеличение плодовитости относительно линии $w^{sat} Or$.

Сравнение мутантных аллелей гена *white* по признаку ГСМ позволяет сделать вывод о том, что аллели w^l , w^a и w^{sat} как на фоне *C-S*, так и на фоне *Or* оказывают негативное влияние на процесс метаморфоза, приводя к увеличению количества погибших особей на этой стадии развития. Выбранная в качестве контроля линия дикого типа *C-S* также характеризуется высоким уровнем ГСМ (на 48% выше по сравнению с *Or*). Для линий на фоне *Or* введение мутаций гена *white* в генотип в среднем увеличивает показатель ГСМ на 30% по сравнению с контролем.

В результате проведенных тестов для выявления роли гена *white* в контроле приспособленности обнаружено, что мутантные аллели гена *white* оказывают статистически значимое влияние на формирование плодовитости, жизнеспособности, ГСМ, рДЛМ и пДЛМ (табл.2.). Доля влияния фактора «аллель» составляет от 15.23% до 32.44% по сравнению с фактором «генетический фон», для которого было установлено достоверное, но не существенное влияние на признаки плодовитость (9.18%), жизнеспособность (13.79%) и рДЛМ (15.84%).

Таблица 2
Степень влияния генетических факторов на формирование признаков приспособленности у мутантов по гену *white Drosophila*

Признак	Фактор	F	p	$\eta^2, \%$
Плодовитость	Аллель (А)	10.7	0.01	28.11
	Ген.фон (Г.Ф.)	9.9	0.01	9.18
	А.+Г.Ф.	7.9	0.01	16.53
Жизнеспособность	Аллель (А)	14.4	0.01	26.42
	Ген.фон (Г.Ф.)	12.4	0.01	13.79
	А.+Г.Ф.	5.6	0.01	18.25
Гибель на стадии метаморфоза	Аллель (А)	9.5	0.01	32.44
	Ген.фон (Г.Ф.)	0.03	0.86	0.65
	А.+Г.Ф.	2.7	0.03	10.51
% ранних ДЛМ	Аллель (А)	6.1	0.01	21.43
	Ген.фон (Г.Ф.)	16.7	0.01	15.84
	А.+Г.Ф.	2.8	0.03	11.24
% поздних ДЛМ	Аллель (А)	4.0	0.01	15.23
	Ген.фон (Г.Ф.)	0.3	0.53	0.42
	А.+Г.Ф.	3.7	0.01	14.47

Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о том, что генетический фон оказывает действие на признаки приспособленности, однако характер проявления приспособленности будет зависеть именно от аллельного состояния гена *white*.

Продолжительность жизни (ПЖ) также является одним из интегральных показателей приспособленности как отдельной особи так и вида в целом.

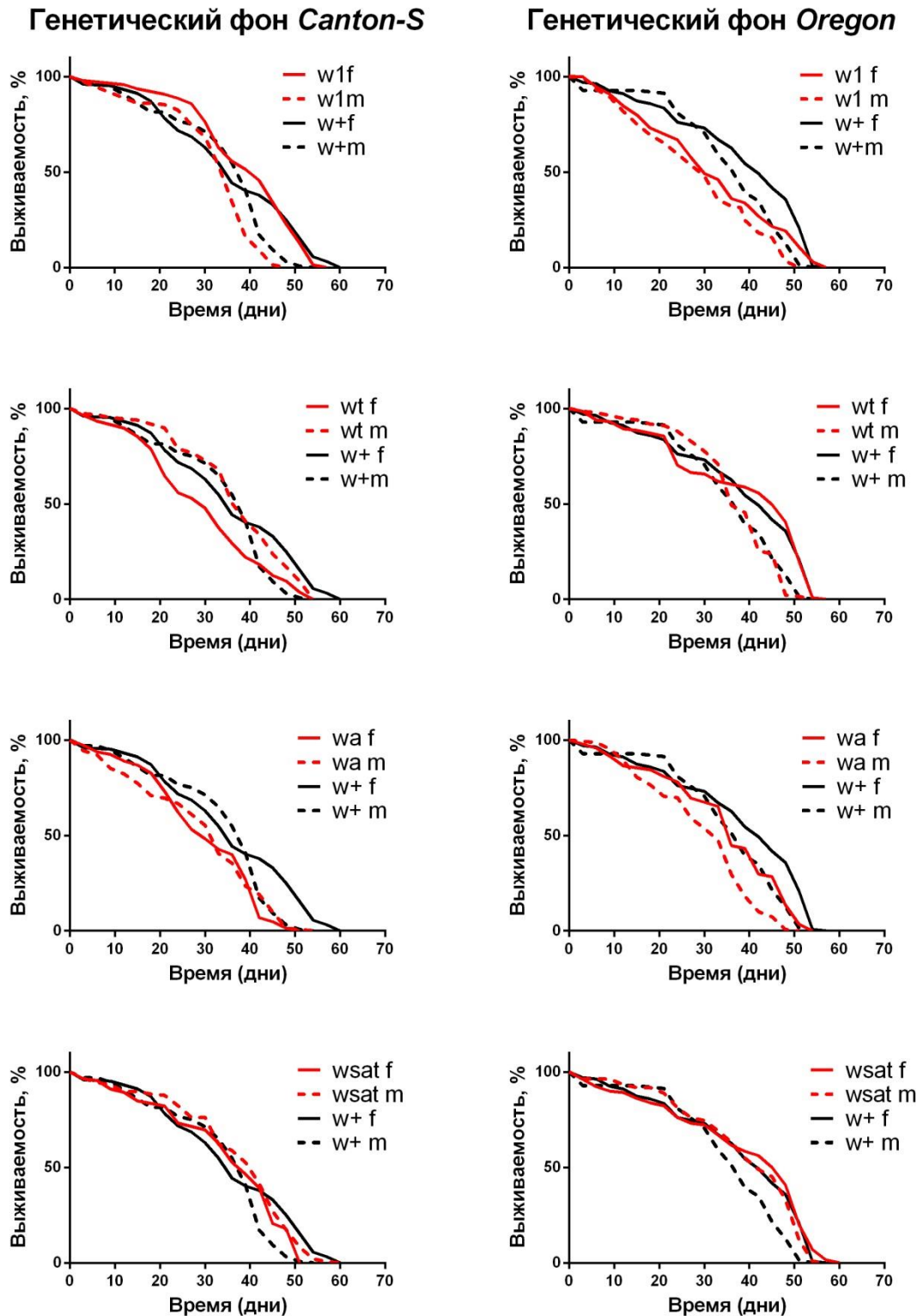


Рисунок 2. Кривые выживаемости самок и самцов с мутациями в гене *white*.

ПЖ мутантных по гену *white* имаго оценивали отдельно для самок и самцов, учитывая критерии средней, медианной и максимальной ПЖ. Значения СПЖ и Мед.ПЖ у самок с мутацией w^1 на генетическом фоне *C-S* выше контроля w^+ на 11% и 16%, соответственно (рис.2.). На генетическом фоне *Or* самки w^1 , наоборот, имеют низкие значения СПЖ и Мед.ПЖ по сравнению с соответствующим контролем на 18% и 28%. Установлено, что у самок с генотипом w^1_{C-S} 50%-ная гибель наступает на 42-й день, по сравнению с w^1_{Or} , где 50% особей гибнут на 30-й день жизни. Для самцов с генотипами w^1_{C-S} и w^1_{Or} наблюдается схожая динамика выживаемости в процессе естественного старения. Для самок с аллелями w^t , w^a и w^{sat} на генетическом фоне *Or* медианная ПЖ на 17%, 38% и 17% выше по сравнению с результатами, полученными на фоне *C-S*. Для самцов с мутациями w^t , w^a , w^{sat} не выявлено достоверных отличий по СПЖ и Мед.ПЖ в зависимости от того на какой генетический фон была внесена мутация гена *white*. Таким образом, результаты исследования влияния мутантных аллелей гена *white* на ПЖ показывают, что изменения параметров ПЖ происходит не только из-за дефицита триптофана, но и при нарушении метаболизма гуанина.

3.2. Влияние мутантных аллелей гена *white* на признаки приспособленности в зависимости от структуры генетического фона

Выявлено, что изогенизация аутосом и гетерозиготность генетического фона в генотипе с аллелями w^a , w^+ и w^{sat} приводят к существенному снижению частоты возникновения леталей, встречаемых на эмбриональной стадии и на стадии метаморфоза. Но для мутантного аллеля w^1 выведение генов/комплекса генов 2-ой и 3-ей хромосом в гомозиготное состояние вызывает значительный рост частоты появления мертвых особей на этих стадиях развития (рис.3А и 3Б).

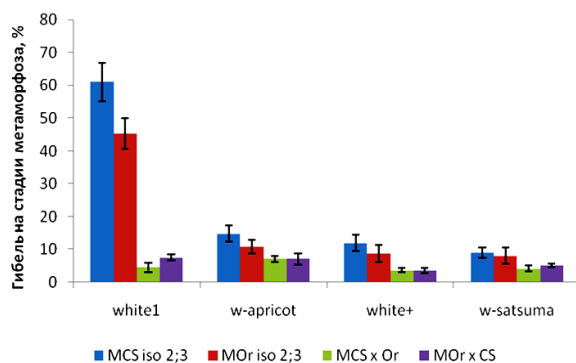


Рисунок 3А. Средняя вариабельность признака гибель на стадии метаморфоза мутантов по гену *white* в зависимости от гомо- и гетерозиготности генетического фона

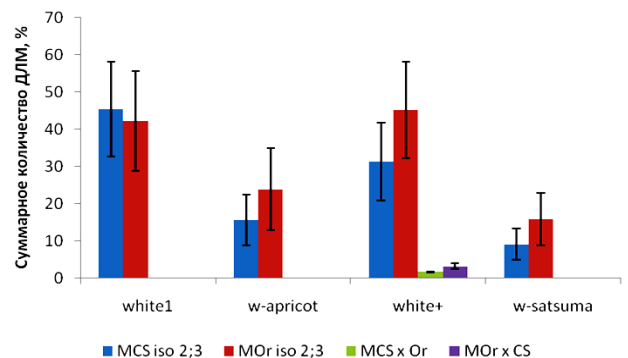


Рисунок 3Б. Средняя вариабельность суммарной гибели эмбрионов у мутантов по гену *white* в зависимости от гомо- и гетерозиготности генетического фона

3.3. Влияние мутантных аллелей гена *white* на признаки поведения имаго *D.melanogaster*

Локомоторная активность (ЛА) – элемент поведения, выступающий как самостоятельный признак приспособленности, а также являющийся составной частью других более сложных признаков, таких как геотаксис, фотоактивность, пищевое, оборонительное и половое поведение.

Выявлено, что ЛА самок и самцов в результате внесения мутаций w^l , w^t , w^a , w^{sat} на генетический фон *C-S* приводит к увеличению локомоции по мере увеличения фенотипической экспрессии гена *white*. Переведение аллелей на фон линии *Or*, наоборот, приводит к снижению локомоции. Выбранные линии дикого типа при этом проявляют разный характер локомоции (особи *C-S* на 70% активнее, чем *Or*).

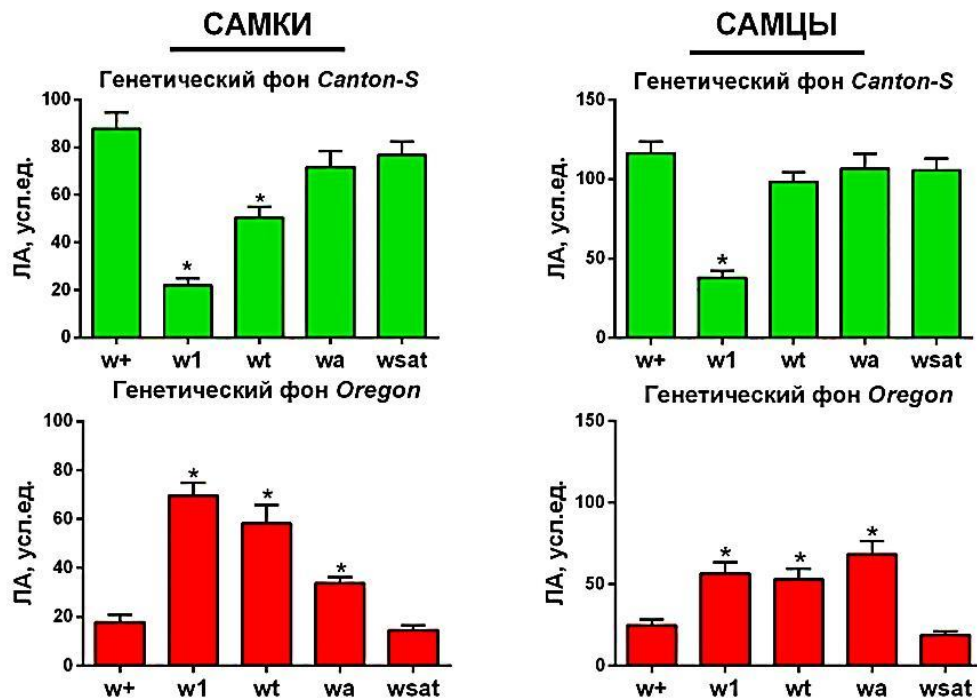


Рисунок 4. Изменчивость ЛА самок и самцов в зависимости от фенотипической экспрессии гена *white*. *- статистически значимые отличия от контроля w^+ (*C-S/Or*) при уровне значимости $p < 0.05$. Сравнение проводили при использовании post-hoc теста Бонферрони

Для крайних фенотипов гена *white* изменение ЛА следующее: $w^l_{C-S} < w^l_{Or}$ на 70%; $w^{sat}_{C-S} > w^{sat}_{Or}$ на 72%. Кроме того, увеличение фенотипической экспрессии гена *white* на генетическом фоне *C-S* приводит к существенному снижению доли неактивных особей в тесте на спонтанную ЛА ($w^l < w^t < w^a < w^{sat} = 46\% < 20\% < 23\% < 11\%$).

Половое поведение – комплексный физиолого-биохимический признак приспособленности, состоящий из определенных последовательных этапов, которые, как правило, повторяются несколько раз, пока не произойдет спаривание. В данной работе мы анализировали: количество особей (самок и самцов), вступивших в копуляцию, а также временные параметры – длительность и задержка копуляции, позволяющие определить влияние аллелей гена *white* на всех этапах полового поведения (рис.5.). Выявлено, что мутация w^1 на фоне *C-S* приводит к редукции полового поведения у самцов на 58% по сравнению с w^1_{Or} и на 61% по сравнению с контролем *C-S*. Для самцов с генотипом w^1_{Or} установлено увеличение доли активных особей на 47% по сравнению с контролем w^+_{Or} . Мутанты w^t , w^a и w^{sat} на фоне *CS* в тесте на ПА – более активны по сравнению с M_{Or} . Показано, что ПР самок в линии w^1_{C-S} на 60% превышает уровень линии w^1_{Or} . ПР самок с генотипами w^a_{C-S} и w^a_{Or} низкая по сравнению с соответствующими контролем и другими мутантными аллелями гена *white*. Для ИПГ самцов и самок выявлено увеличение параметра ДК и снижение ЗК.

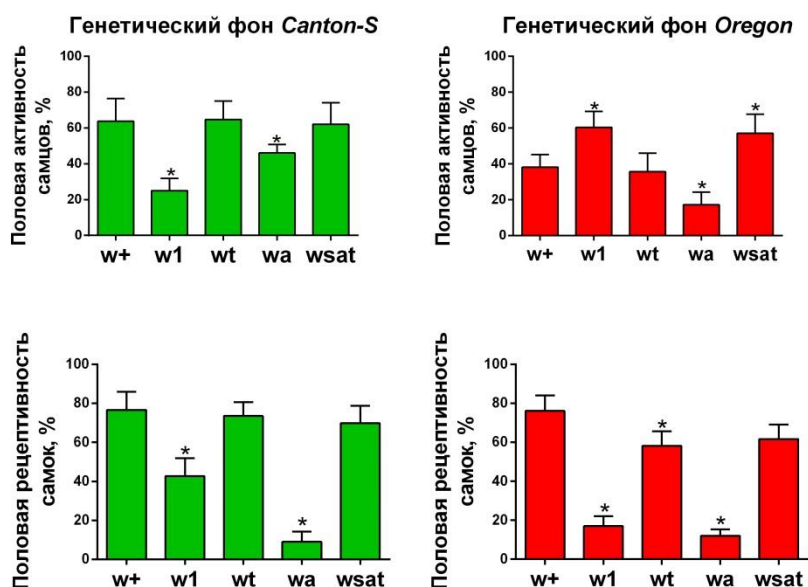


Рисунок 5.

Изменчивость ПА самцов и ПР самок в зависимости от аллельного состояния гена *white*.

* – статистически значимые отличия от контроля w^+ (*C-S/Or*) при $p < 0.05$. Сравнение проводили с использованием *post-hoc* теста Бонферрони

Результатом проведенного анализа является установление роли гена *white* и его аллельных вариантов на формирование двигательного и полового поведения (табл.3.). Обнаружено, что доля влияния фактора «аллель» на формирование у самцов ЛА играет более существенную роль, чем у самок и составляет 15%. Фактор «аллель» оказывает значительно высокое влияние на половое поведение самок в условиях избытка самцов (ПР) – 56%, а также на временные параметры: ДК_{ПР} – 28% и ЗК_{ПР} – 31%. Таким образом, можно сделать вывод о существенном влиянии мутантных аллелей гена *white* на признаки поведения дрозофилы. При этом мутации в гене *white* могут существенно улучшать поведенческий фенотип в зависимости от фона определенного генотипа.

Таблица 3

Степень влияния генетических факторов на формирование признаков поведения у мутантов по гену *white* *Drosophila*

Фактор Показатель	Аллель ($\eta^2_{ал}$). %			Генетический фон ($\eta^2_{гф}$). %			Аллель + генет. фон ($\eta^2_{ал+гф}$). %		
	F	p		F	p		F	p	
ЛА самок	2	4.8	<0.05	20	9.5	<0.05	17	9.2	<0.05
ЛА самцов	15	9.1	<0.05	49	36.9	<0.05	33	62.8	<0.05
ПА	9	2.4	>0.05	3.3	3.1	>0.05	15	4.2	<0.05
ПР	56	27.8	<0.05	4	4.1	<0.05	5	1.1	>0.05
ДК (ПА)	2	4.8	<0.05	1	5.3	<0.02	7	8.7	<0.05
ЗК (ПА)	9	11.4	<0.05	1.2	5.9	<0.02	5	6.4	<0.05
ДК (ПР)	28	48.5	<0.05	1.3	6.7	<0.01	1	1.6	>0.05
ЗК (ПР)	31	54.6	<0.05	0.6	3.4	>0.05	1	1.4	>0.05

3.3. Влияние мутантных аллелей гена *white* на приспособленность в зависимости от возраста организма *D. melanogaster*

Старение является заключительным этапом онтогенеза, на котором происходит изменение экспрессии генов и эпигенетического паттерна, что приводит к возникновению «новых» компенсаторных механизмов, направленных на поддержание жизнедеятельности организма.

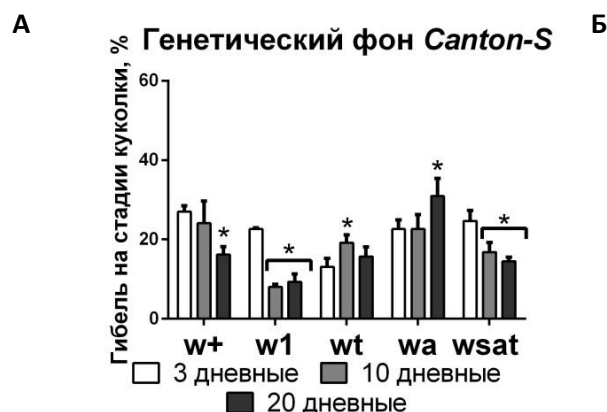
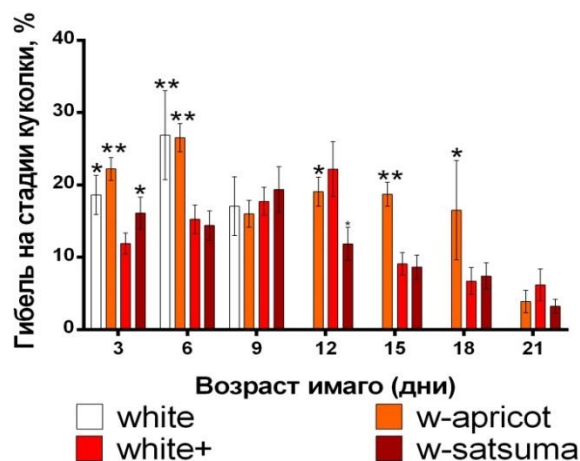
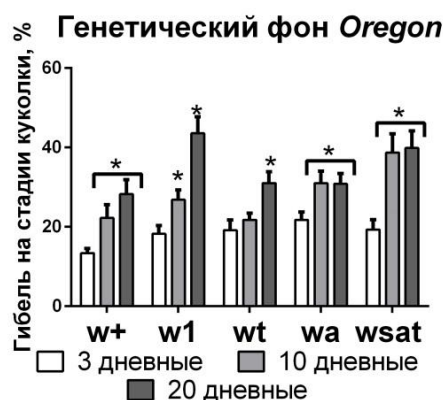


Рисунок 6. Изменчивость параметра ГСМ в зависимости от аллельного состояния гена *white* в процессе онтогенеза (А) и у потомков F1, полученных от стареющих родителей (Б). На рисунке 5А *- достоверное отличие от контроля w^+ . На рисунке 5Б *- с контрольной группой потомков от 3-х дневных имаго.



Установлено, что мутантные аллели гена *white* – w^l и w^a приводят к существенному увеличению гибели на стадии метаморфоза по мере старения организма по сравнению с мутацией w^{sat} и нормальным аллелем w^+ (рис.6А.). Показано, что потомки F₁ от стареющих 10-ти и 20-ти дневных родителей в линиях M_{C-S} имеют сниженную частоту ГСМ по сравнению с F₁ от 3-х дневных родителей и по сравнению с соответствующей группой в линиях M_{Or} , тем самым проявляя компенсаторный механизм (рис.6Б).

Таким образом, показано плеiotропное действие гена *white* на признаки приспособленности, которое в комбинации с возрастом родителей, приводит к появлению менее адаптивно приспособленных и, что не менее важно, менее жизнеспособных потомков на всех этапах развития насекомого, о чем свидетельствуют низкие значения плодовитости и жизнеспособности и высокие значения ДЛМ и ГСМ, полученные в нашем исследовании.

Показано, что 3-х дневные СПГ особи с генотипами w^l_{C-S} и w^a_{C-S} характеризуются достоверно меньшим количеством ооцитов на каждой стадии их созревания по сравнению с имаго, имеющими генотип w^+_{C-S} . Следует сказать, что для всех без исключения линий характерным является деградация ооцитов на более поздних этапах их созревания, начиная с 10-ти дневного возраста имаго (рис.7.).

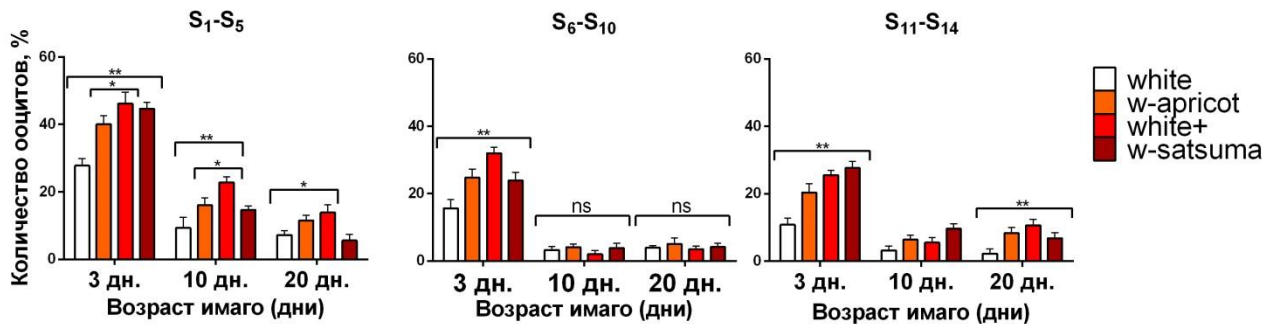


Рисунок 7. Изменчивость количества ооцитов в зависимости от аллельного состояния гена *white* и возраста организма. Астериск указывает достоверное отличие от контроля w^+ в соответствующей возрастной группе: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.0001$.

По-видимому, наблюдаемое различие в характере формирования приспособленности у депигментированных особей и особей с ИПГ вызвано, во-первых, различиями в количестве жизнеспособных ооцитов, а, во-вторых, гормональным дисбалансом.

Наблюдения за изменчивостью поведения дрозофилы в онтогенезе проводили в течение первых 24 дней жизни имаго, поскольку для некоторых из исследуемых в работе мутантов время 50 % гибели имаго начинается с 29-30 дня жизни. Выявлено, что мутанты w^l и w^a характеризуются сниженной реакцией в тестах на локомоцию и половое поведение (рис.8.). Для мутантов w^l снижение активности в тесте на половое поведение на 9-ый день

эксперимента соответствует результатам, полученным по изменению параметров приспособленности в онтогенезе. Установлено, что характер формирования признаков поведения в онтогенезе мутантных по гену *white* имаго зависит и от аллельного состояния гена, и от возраста организма, а также от их комбинации. Влияние этих факторов распределяется соответственно на ЛА – 70%, 82% и 36% ($p < 0.01$); на ПА – 57%, 32% и 22% ($p < 0.01$); на ПР – 42%, 63% и 24% ($p < 0.01$).

Таким образом, функциональные изменения в процессе старения проявляются не только в редукции репродуктивной функции, а также приводят к угнетению поведенческих реакций (рис.8.). Поскольку в результате исследований у мутантов по гену *white* выявлена взаимосвязь признаков поведения и приспособленности, был проведен анализ активности фермента щелочная фосфатаза (ЩФ), который необходим для синтеза дофамина, регулирующего работу и нервной и эндокринной систем (ювенильный гормон – ЮГ).

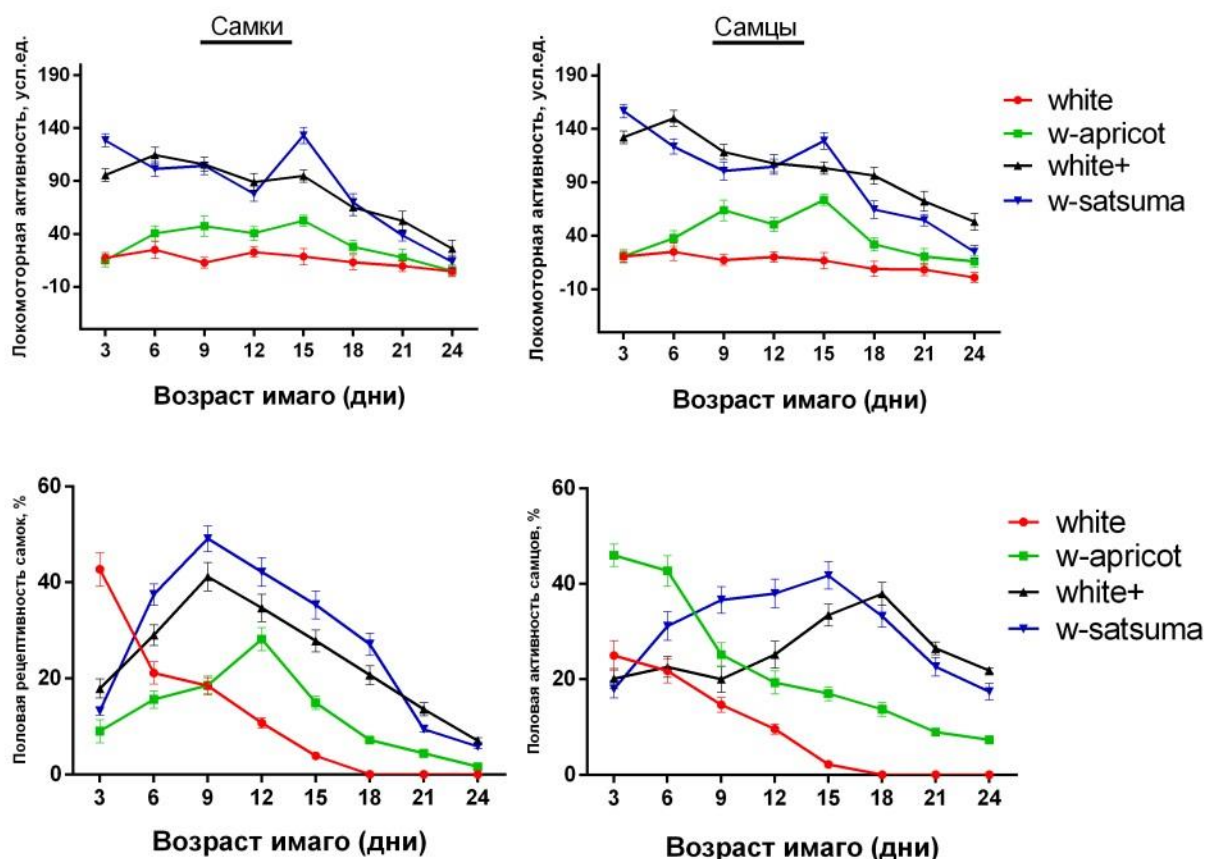


Рисунок 8. Онтогенетическая изменчивость признаков поведения имаго *Drosophila* в зависимости от фенотипической экспрессии гена *white*.

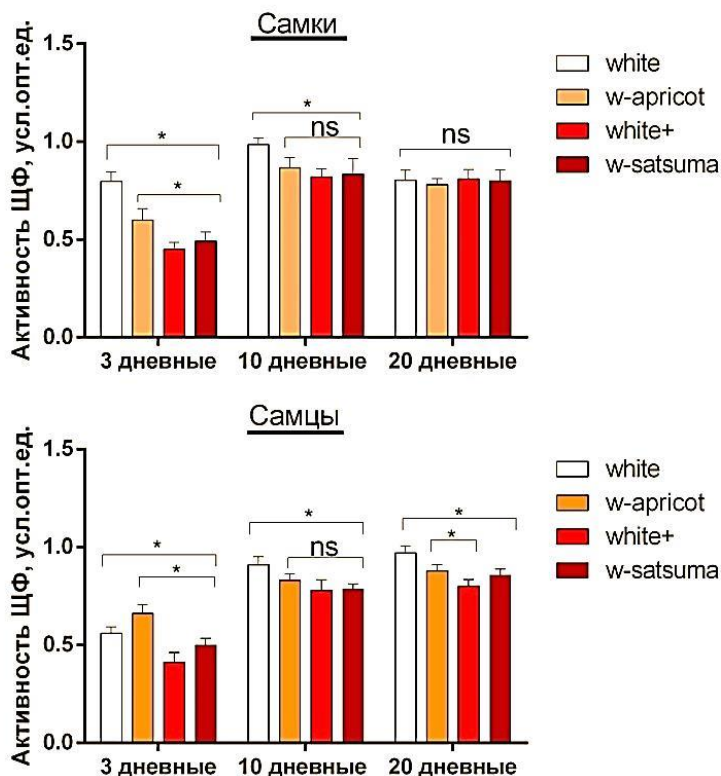


Рисунок 9.
Активность фермента ЩФ в зависимости от аллельного состояния гена *white*, пола и возраста имаго *Drosophila*. *- достоверное отличие от контроля w^+ ($p < 0.05$).

Для стареющих 10-ти и 20-ти суточных самок и самцов выявлено увеличение активности ЩФ приблизительно в 1,3 раза по сравнению с показателями, наблюдаемыми у молодых имаго (рис.9.). Отмечено достоверное влияние фактора «аллель» на исследуемый показатель, доля которого составила 45% ($p < 0,01$). Таким образом, увеличение активности ЩФ у молодых самок w^1 приводит с одной стороны к снижению ЛА, а с другой – к снижению количества ооцитов стадий S11-14, за счет деградации ЮГ, ответственного за созревание ооцитов на последних этапах оогенеза и откладку яиц.

Поскольку процесс старения ассоциирован с нарушениями работы нервной системы, что имеет отклик в изменении поведенческого фенотипа, то нами был проведен гистологический анализ препаратов срезов мозга имаго трех возрастных групп: молодых – 3-х суточных и стареющих – 10-ти и 20-ти суточных имаго.

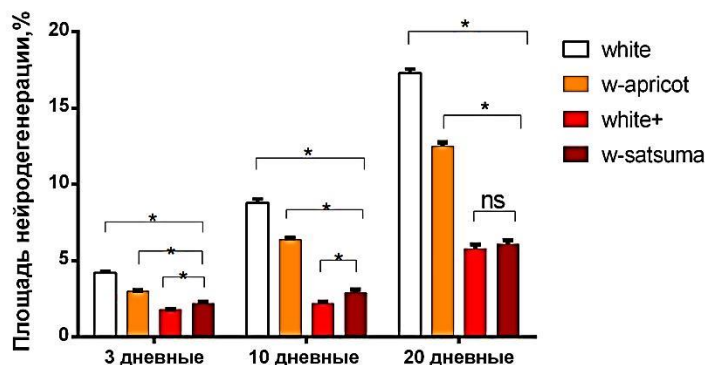


Рисунок 10.
Уровень нейродегенерации тканей головного мозга имаго дрозофилы в зависимости от аллельного состояния гена *white* и возраста. *- достоверное отличие от контроля w^+ ($p < 0.05$).

В результате исследования нами установлено, что слабопигментированные мутанты w^1 и w^a характеризуются высоким уровнем нейродегенерации, который прослеживается во всех возрастных группах и при этом с увеличением возраста особи усугубляется нарушение структур мозга. В 10-ти дневном возрасте у имаго с мутациями w^1 и w^a происходит увеличение поврежденной площади мозга и составляет 45% и 42%, соответственно. На 20-ый день жизни имаго w^1 и w^a площадь нейродегенерации составляет около 70% (рис.10). Для мух, характеризующихся ИПГ – w^+ и w^{sat} – значимые изменения, затрагивающие нервную ткань головного мозга, проявляются только у 20-ти суточных особей. Показано, что для мутантов w^1 нейродегенерация проявляется уже в 3-х дневном возрасте и прогрессирует в течение всей жизни имаго, при этом затрагивая следующие структурные отделы мозга: ГТ, ЦК и лобула и медула (рис.11). Следует отметить, что возникновение вакуолей у мутантов w^a начинается с 10-го дня жизни имаго. Также у слабопигментированных 10-ти суточных мух наблюдается образование вакуолей и в ретине – ретинальная нейродегенерация, что очевидно будет нарушать фоторецепцию имаго.

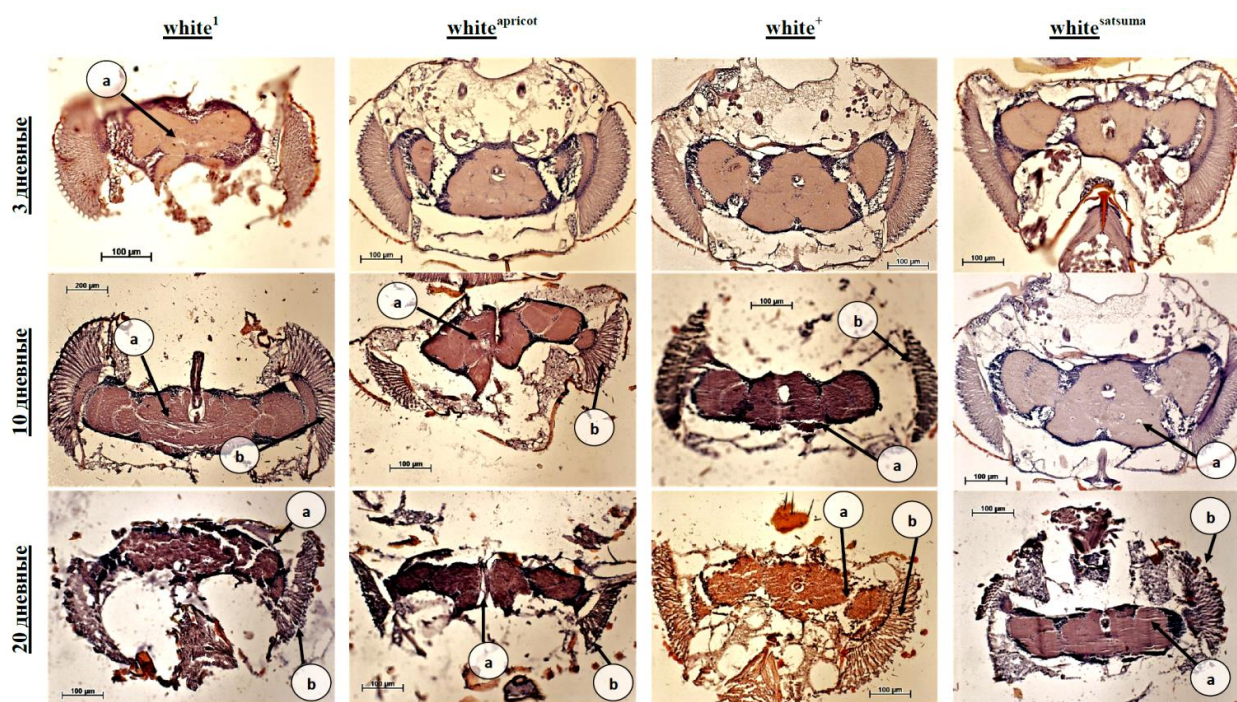


Рисунок 11. Препараты головного мозга мутантных по гену *white* имаго дрозофилы. На рисунке буквами а и б указаны участки, обозначающие дегенерацию нервной ткани и ретины соответственно.

Таким образом, вакуоли в нервной ткани мозга в раннем имагинальном развитии дрозофилы, очевидно, вероятно оказывают влияние на формирование низкой двигательной активности из-за аномалии и / или деградации дофаминовых и серотониновых нейронов в этих поврежденных регионах.

ВЫВОДЫ

1. Выявлено, что характер влияния мутантных аллелей w^l , w^t , w^a , w^{sat} гена *white* зависит от генетического фона линий дикого типа *Canton-S* и *Oregon*. Данная зависимость проявляется в том, что у линий M_{C-S} с увеличением степени пигментации растут показатели жизнеспособности и плодовитости на имагинальной стадии развития, однако на эмбриональной стадии происходит увеличение количества летальных мутаций и сокращается продолжительность жизни. В свою очередь для линий M_{Or} увеличение степени пигментации приводит к снижению частоты возникновения летальных мутаций на эмбриональной и предимагинальной стадиях развития, а также увеличивает среднюю продолжительность жизни имаго.
2. Установлено, что ген *white* влияет на локомоторную активность и половое поведение. При этом характер локомоции и полового поведения будет зависеть от мутантного аллеля, который может существенно улучшать поведенческий фенотип в зависимости от фона определенного генотипа. Для линий M_{C-S} зависимость между фенотипической экспрессией гена *white* и поведенческими реакциями имеет вид $w^l < w^t < w^a < w^+ < w^{sat}$, а для линий M_{Or} – $w^l > w^t > w^a > w^+ > w^{sat}$.
3. Мутантные аллели гена *white* оказывают влияние на частоту эмбриональной и предимагинальной гибели, приводя к снижению жизнеспособности у потомков F_1 , полученных от стареющих 10-ти и 20-ти дневных родителей, что обусловлено сокращением количества зрелых ооцитов на стадии S11-14 у 10-ти дневных самок с мутацией w^l .
4. Установлено, что у молодых имаго с мутациями w^l и w^a в возрасте 3-х и 10-ти дней нарушение локомоции и полового поведения вызвано возникновением ранних нейродегенеративных процессов в мозге и изменением гормонального профиля.
5. Изменение генетического фона в сторону гомозиготности 2-ой и 3-ей хромосом у мутантов по гену *white* приводит к увеличению эмбриональной и постэмбриональной гибели для имаго с мутацией w^l по сравнению с исходными линиями w^l_{C-S} и w^l_{Or} и реципрокными гибридами. При этом как гетерозиготность, так и гомозиготность генетического фона увеличивают параметры локомоции более чем в два раза по сравнению с исходными линиями.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Работы, опубликованные в изданиях, рекомендованных ВАК РФ:

1. **Kostenko V.V.** Aging-Associated Changes in the Reproductive Function of *Drosophila melanogaster* Offspring / V.V. Kostenko, N.V. Kolot // Adv Gerontol. - 2018. - Vol. 8 (2). - p. 132-139. <https://doi.org/10.1134/S207905701802008X>. (версия на русском языке: **Костенко В.В.**, Колот Н.В. Возраст-ассоциированные изменения репродуктивной функции потомков *Drosophila melanogaster* // Успехи геронтол. - 2017. - Т. 30. - № 6. - С. 859–867.).
2. **Костенко В.В.** Возрастные изменения локомоторного и полового поведения на модели *Drosophila melanogaster* / В.В. Костенко, Ю.А. Емелина, Э.В. Бабынин // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. - 2018. - Т.16 - СВ №1 - с.76.
3. **Костенко В.В.** Сравнительный анализ признаков полового поведения у мутантов локуса *white* имаго *Drosophila melanogaster* // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2017. – Т. 159, кн. 2. – С. 293–305.
4. **Костенко В.В.**, Колот Н.В., Воробьева Л.И. Изучение стадий эмбриональной гибели *Drosophila melanogaster* в зависимости от возраста и голодания имаго //Онтогенез. - 2015. - № 6. - С. 430-438.

В прочих изданиях:

1. Колот Н.В., **Костенко В.В.**, Воробьева Л.И. Влияние возраста родителей и аллельного состояния гена *white* на показатели приспособленности *Drosophila melanogaster* // Вестник Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина. Серия: биология. - 2016. - № 26. - С. 117-124.
2. Горенская О.В., **Костенко В.В.**, Таглина О.В., Воробьева Л.И. Влияние аллельного состояния локуса *white* на некоторые показатели приспособленности у *Drosophila melanogaster* // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип. 1. - № 117. – С. 74-79.
3. **Костенко В.В.**, Колот Н.В., Воробйова Л.І. Вплив віку та голодування на яйцепродукцію імаго *Drosophila melanogaster* і порушення ембріонального етапу //Вісник Львівського національного університету імені Івана Франка, серія «Біологія». – 2014. – Вип.66. – С. 64-72.
4. **Костенко В.В.**, Воробьева Л.И. Влияние аллелей локуса *white* и генетического фона на локомоторную активность имаго *Drosophila melanogaster* // Вестник Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина. Серия: биология. - 2012. - Вып. 16. - № 1035. С. 90-96.

5. Волкова Н.Е., Григорьев Д.С., **Костенко В.В.**, Воробьева Л.И. . Вплив штучних перебудов генотипу на адаптивно значущі ознаки поведінки *Drosophila melanogaster* // Вестник Харьковского национального университета имени В.Н.Каразина. Серия: биология. - 2011. - Вып. 14. - № 971. - С. 82-91.
6. **Kostenko V.V.** Variability of locomotor activity during aging of *Drosophila white* gene mutants / V.V. Kostenko, A.G. Porfirev, A.V. Sadykova // Interventions to extend healthspan and lifespan: Abstracts of reports of international conference. - Kazan, 2018. - P. 42-43.
7. **Костенко В.В.** Возраст-специфическая изменчивость поведения имаго *Drosophila melanogaster* с мутациями в гене *white* / В.В. Костенко, А.Г. Порфирьев, А.В. Садыкова // Нейронаука для медицины и психологии: XIV Международный междисциплинарный конгресс. Судак, Крым, Россия; 30 мая – 10 июня 2018 г.: Труды Конгресса / Под ред. Е.В. Лосевой, А.В. Крючковой, Н.А. Логиновой. –Москва: МАКС Пресс, 2018. - с. 274-275.
8. **Kostenko V.** Different performance of mating behavior in *white* mutant of *Drosophila* during the aging/ V. Kostenko, I. Sharafutdinov, A. Porfiriev//Abstracts of the 52nd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation “Precision medicine for healthy ageing” (Barcelona, Spain) - 2018. - p.218-219. doi.org/10.1111/eci.12926.
9. Емелина Ю.А., **Костенко В.В.** Влияние возраста родителей на формирование признаков полового поведения у потомков имаго дрозофил // Тезисы докладов 71-й Всероссийской с международным участием школы-конференции молодых ученых «Биосистемы: организация, поведение, управление» (17-20 апреля 2018, Нижний Новгород). Н.Новгород, Университет Любачевского - 2018. - С. 81.
10. Емелина Ю.А., **Костенко В.В.** Влияние эндогенного триптофана на локомоцию *Drosophila melanogaster* на модели гена *white* // Современные проблемы нейробиологии. Материалы III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина Валентина Викторовича. - Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2018. - с. 23-24.
11. Колот Н.В., **Костенко В.В.** Влияние возраста отцовского организма на онтогенез потомков *Drosophila melanogaster* / Н.В. Колот, В.В. Костенко // Дрозофіла в експериментальній генетиці та біології: Матеріали VI Міжнародної конференції / Харків: ФОП В.В. Петров, 2018. - с. 44-47.
12. **Костенко В.В.** Изучение роли искусственных перестроек генотипа на формирование адаптивно важных признаков приспособленности у имаго

Drosophila melanogaster, мутантних по локусу *white* / В.В. Костенко // Сборник тезисов Всероссийской конференции «Дрозофила в генетике и медицине» (4-6 октября 2017 г.) - 2017 - С. 71.

13. **Костенко В.В.**, Колот Н.В. Влияние пол-возрастных особенностей родителей на частоту возникновения эмбриональной гибели *Drosophila melanogaster* // Актуальные проблемы современной генетики. Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 40-летию кафедры генетики Института фундаментальной медицины и биологии Казанского университета: тезисы докладов (20-22 октября 2016 г.) - Казань: Изд-во Казан. ун-та, 2016. - С. 61-63.

14. **Kostenko V.V.** Comparative analysis of *Drosophila melanogaster* locus *white* on phototaxis // XI East European Conference of the International Society for Invertebrate Neurobiology :Simpler Nervous Systems« (May 15-19, Zvenigorod, 2016) - p.49.

15. **Костенко В.В.**, Колот Н.В., Воробйова Л.І. Вплив віку та голодування на яйцепродукцію імаго *Drosophila melanogaster* і порушення ембріонального етапу //Вісник Львівського національного університету імені Івана Франка, серія «Біологія». – 2014. – Вип.66. – С. 64-72.

16. **Костенко В.В.**, Алейникова А.А. Анализ влияния гетерозиготности генетического фона на формирование признаков приспособленности линий *D.melanogaster* // Материалы XX Международной научно-практической конференции «Европейская наука XXI века - 2014». Серия: Биологические науки (7-15 мая 2014 года Przemysl, Польша). - Sp. z o.o. “Nauka I studia” Przemysl. – 2014. – С.66-69.

17. **Костенко В.В.** Анализ влияния возраста родителей на локомоторную активность имаго *Drosophila melanogaster* // Матеріали ІХ Міжнародної Конференції молодих учених (18-20 листопада 2014, м. Харків, Україна) «Біологія: від молекули до біосфери» - Х.: ФОП Шаповалова Т.М. – 2014. – С.52.

18. **Костенко В.В.** Вивчення компонентів статевої поведінки ліній *Drosophila melanogaster*, що містять різні алелі локусу *white* // Молодь і поступ біології: збірник тез VIII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів (16-19 квітня 2013 року, м.Львів). – Львів, 2013. – С. 160-161.

19. **Костенко В.В.**, Глянько Е.В. Влияние генетического фона и алелей локуса *white* на продолжительность жизни имаго дрозофилы в норме и при голодании // «Біологія: від молекули до біосфери». Матеріали VIII Міжнародної конференції молодих учених (3-6 грудня 2013 року, м. Харків, Україна). – Х.: ФОП Шаповалова Т.М. – 2013. – С.93-94.

20. **Костенко В.В.**, Толочкеева А.А., Глянько Е.В. Анализ влияния аллелей локуса *white* и генетического фона на формирование некоторых компонентов приспособленности *Drosophila melanogaster* // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб.наук.пр. - К.: Логос, 2012. С.118-123.
21. Волкова Н.Е., Филипоненко Н.С., **Костенко В.В.**, Григорьев Д.С., Навроцкая В.В., Воробьева Л.И. Изменчивость признаков поведения *Drosophila melanogaster* в зависимости от структуры генотипа // V Всероссийская конференция по поведению животных. Сборник тезисов. Москва, 2012. – С.35.
22. **Костенко В.В.**, Волкова Н.Е., Воробйова Л.И. Аллель-специфическое действие мутаций в локусе *white* *Drosophila melanogaster* на локомоторную активность имаго разного пола // Матеріали II Міжнародної конференції «Дрозофіла у експериментальній генетиці та біології», (м.Одеса, 6-10 вересня 2010 р.).-Одеса: Печатный дом-2010 – 92-95с.