

ЗАСТОСУВАННЯ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЯК ТЕСТ-ОБ'ЄКТУ ДЛЯ ОЦІНКИ ЕКОЛОГІЧНОГО СТАНУ ОБ'ЄКТІВ ДОВКІЛЛЯ ТА ЕКОСИСТЕМ

Клепач Г. М.

ВСТУП

В сучасних умовах високих та інтенсивних технологій, екосистеми України та світу, що перебувають у сфері людської діяльності, зазнають постійного техногенного¹ та антропогенного навантаження². Особливо небезпечних, а, подекуди, непоправних ушкоджень зазнають екосистеми у зонах катаклізмів, масштабних пожеж, воєнних дій, аварій³. Екологічні загрози посилюються ще й тим, що у таких зонах зазнають руйнувань різні нафтовидобувні, металургійні та хімічні підприємства. Однією із загроз високого екологічного ризику є хвостосховища підприємств, де зберігаються рідкі промислові відходи⁴. Потенційні загрози, які пов'язані з руйнуваннями чи пошкодженням цих об'єктів, включають ризики повеней, вибухів, що складає хімічну, екологічну та пожежну небезпеку, згідно з дослідженнями Організації з безпеки і співробітництва в Європі (ОБСЄ). Експерти з екології зазначають, що руйнування таких підприємств, матимуть на екосистеми не тільки короткостроковий, а довгостроковий негативний вплив, а також ж, не тільки локальні, але й глобальні зміни⁵.

Небезпечні для здоров'я людини речовини, серед яких – значна частка з токсичною та генотоксичною дією, також щоденно надходять у

¹Heavy Metal and Metalloid Pollution of Soil, Water and Foods in Bangladesh: A Critical Review / M. Islam et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018. Vol. 15, no. 12. P. 2825. URL: <https://doi.org/10.3390/ijerph15122825> (date of access: 10.11.2023).

²Comparative assessment of microplastics in water and sediment of a large European river / C. Scherer et al. *Science of the Total Environment*. 2020. Vol. 738. P. 139866. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139866> (date of access: 10.11.2023).

³Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна* / Т.В. Мариненко та ін. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

⁴Ніколаєва І., Ленько Г., Лободзінський О. Дослідження поточного стану хвостосховищ Донбасу щодо їхнього можливого аварійного впливу на водні об'єкти в умовах військових дій/ під ред. Міністерства енергетики та захисту довкілля та ОБСЄ. Хвостосховища Донбасу. Київ, 2020. 52 с. URL: <https://www.osce.org/files/f/documents/b/b/456847.pdf>.

⁵Environmental Xenobiotics and Its Effects on Natural Ecosystem / A. Embrandiri et al. *Plant Responses to Xenobiotics*. Singapore, 2016. P. 1–18. URL: https://doi.org/10.1007/978-981-10-2860-1_1 (date of access: 10.11.2023).

середовище у вигляді побутових та промислових відходів, стічних вод, забруднюючи його⁶. Забрудненість поллютантами об'єктів середовища спричиняє порушення й пригнічення усіх життєвих процесів: дихальної й ферментативної активності, мікробного очищення, змінюється також природне співвідношення чисельності макро– і мікроорганізмів й напрямок обміну речовин у ґрунтах, водоймах. У результаті забрудненості різними за хімічною природою поллютантами, нафтою й нафтопродуктами компонентів екосистем через повітря, воду й ґрунт відбувається надходження їх у біологічні цикли та окремі організми, їх подальша трансформація, акумуляція, перерозподіл й переміщення у трофічних ланцюгах⁷.

Ефективний захист та відновлення екосистем навколишнього середовища є можливий лише за достовірної інформації про їх екологічний стан, про забрудненість ґрунту, води, повітря, про перебіг процесів у них. Задля цього розроблено чимало методів якісного й кількісного аналізу, які дають змогу оцінити вміст та трансформацію поллютантів⁸. Серед них, фізико-хімічні, зокрема методи оптичної та лазерної спектроскопії, ядерного магнітного резонансу, електрохімії, хроматографії, мас-спектрометрії. Окреме місце посідають методи дистанційного зондування біосфери – фотографування, відбивальна та флуоресцентна спектроскопія, термічна та надвисокочастотна дистанційна діагностика⁹.

Однак зазначені фізико-хімічні методи аналізу оцінюють екосистеми лише кількісними показниками, які не ураховують ефекти синергізму, антагонізму й сумарної дії токсикантів⁶. Тому сучасний екологічний моніторинг екосистем включає не лише дослідження рівня їх забрудненості поллютантами та зміну фізико-хімічних властивостей ґрунтів, водойм, а й дослідження, здійснені методами біоіндикації та біотестування⁶.

Метою даного дослідження є здійснити аналіз тест-систем, у яких досліджується біологічний вплив та виявляються мутагенні й рекомбіногенні властивості хімічних і фізичних чинників, ксенобіотиків

⁶Трахтенберг І. М., Левицький Є. В. Генотоксична дія потенційно небезпечних хімічних сполук. *Вісник НАН України*. 2016. № 7. 42–27. URL: 10.15407/visn2016.07.027.

⁷Klepach H., Holub N., Lupak O. Assessment of ecotoxicological state of technologically modified edaphotopes with waste of oil refinery with the Allium-test method. *Visnyk of Lviv University. Biological series*. 2021. No. 84. P. 84–93. URL: <https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.84.08> (date of access: 10.11.2023).

⁸Посудін Ю. І. Методи вимірювання параметрів навколишнього середовища: підручник. Київ: Світ, 2003. 285 с. URL: <http://www.ekmair.ukma.edu.ua/handle/123456789/1825>.

⁹Ломницька Я. Ф., Чабан Н. Ф. Хімічні та фізико-хімічні методи аналізу в екологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2009. 304 с. URL: <http://catalog.lounb.org.ua/bib/393349>.

й полютантів на *D. melanogaster* як модельний об'єкт, оцінюється їхня токсичність та генотоксичність.

1. *D. melanogaster* як тест-об'єкт у біологічних, токсикологічних та екологічних дослідженнях

Для оцінки та моніторингу біологічних ефектів полютантів у об'єктах довкілля розроблено різні методи біоіндикації та біотестування. Біоіндикація уможливорює реєстрацію відгуку біоценозу на екзогенний вплив. Однак, види-біоіндикатори не завжди миттєво реагують на зміну екологічних умов, оскільки їхніми індикаторними ознаками є популяційні процеси та процеси угруповання загалом. Часто вони можуть бути результатом сумування різних екзогенних чинників та адаптаційних механізмів виду-індикатора¹⁰. На відміну від біоіндикації, методи біотестування уможливають визначення ступеня впливу чинника на біоценоз та рівня токсичності певного зразка ґрунту чи води¹¹. Згідно із настановами міжнародної комісії, для достовірної оцінки екологічного стану об'єкта середовища методами біотестування рекомендується застосовувати не менш як два тест-об'єкти Вибір певного біологічного об'єкта та відповідної тест-системи визначається насамперед придатністю їх застосування, чутливістю та результативністю, оскільки кожна тест-система має свої переваги за дослідження того чи іншого ефекту ксенобіотика¹². Для вияву генотоксикантів у забруднених водоймах, ґрунтах використовують мікробіологічні тест-системи – тест Еймса та SOS-хромотест. Тест *Samonella thyphimurium*, ауксотрофів по гістидину, які містять мутації у відповідному гені. Дані тести уможливають оцінити рівень генотоксичності досліджуваних зразків за появою ревертантів¹³. Серед інших тестів, особлива увага приділяється рослинним, завдяки доступності, простоті й економічності досліджень за їх застосування, достовірності та узгодженості отриманих результатів. Тому вони

¹⁰Біотестування та фітоіндикація якості водного середовища урбанізованих територій/ А. А. Алексеева та ін. *Екологія та ноосферологія*. 2019. 30(2). 101-105. URL: <https://doi.org/10.15421/031917>.

¹¹Крайнюкова А. М., Крайнюков А. М., Кривицька І. А. Використання методик біотестування для оцінювання екологічного стану поверхневих вод. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Екологія. 2021. № 24. С. 103–116. URL: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2021-24-09>.

¹²Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals (1985). Prepared for the IPCS by International Commission Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. Geneva, 1985. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/38607/9241541911-corr-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (date of access: 12.11.2023).

¹³Malachova K. Using Short-Term Mutagenicity Tests for the Evaluation of Genotoxicity of Contaminated Soils. *Journal of Soil Contamination*. 1999. Vol. 8, no. 6. P. 667–680. URL: <https://doi.org/10.1080/10588339991339531> (date of access: 12.11.2023).

широко використовуються для оцінки токсичності води, рівня забрудненості ґрунтів та оцінці їх екологічного стану¹⁴.

Для оцінки біологічного впливу поллютантів на тваринні організми як компоненти екосистем, а також для екстраполяції отриманих даних на людей, застосовуються різноманітні тваринні тест-об'єкти: риби *Danio rerio*, гіллястовусі та зяброногі ракоподібні тощо. В окремих випадках застосовують тест-системи, у яких аналізують частоту хромосомних мутацій у лімфоцитах периферичної крові людей, які живуть на забруднених територіях¹⁵.

Серед біологічних об'єктів тваринного походження, які використовуються у тестах для визначення реальної та потенційної мутагенної активності різних речовин, ксенобіотиків, чинників середовища значиться також плодова мушка *D. melanogaster* (*Diptera, Drosophilidae*)¹⁶. Завдяки добре вивченому генетичному контролю багатьох життєвих функцій¹⁷, *D. melanogaster* ефективно використовується у токсикології для виявлення токсичних, мутагенних, канцерогенних чи протекторних властивостей різноманітних хімічних сполук, скринінгу лікарських засобів на генетичну активність, встановленні молекулярних механізмів їх дії. Результати майже вікового вивчення *D. melanogaster* дають змогу проаналізувати увесь спектр можливих мутацій і прогнозувати генетичні ситуації, які наявні у інших організмів. Тому плодова мушка *D. melanogaster* знаходить застосування і в біомедичних дослідженнях, біogerонтології, дослідженнях метаболічних розладів, наслідків спадкових хвороб¹⁸, нестачі мікроелементів, поширеності та еволюції різних видів плодової мушки, включаючи інвазивні види, соціальні проєкти, пов'язані з екологією різних видів *Drosophila* тощо. Будучи одним з основних модельних об'єктів експериментальної біології, *D. melanogaster* застосовується для вивчення різних біологічних явищ та перебігу

¹⁴Кущоконь Н. Рослинні тест-системи для визначення генотоксичності. *Вісник НАН України*. 2010. № 4. С. 48–52. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/27248/06-Kutsokon.pdf?sequence=1>.

¹⁵Болтіна І. В. Використання культури лімфоцитів периферичної крові людини в токсикологічних дослідженнях. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2010. № 4. С. 111–119. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/23238/20-Boltina.pdf?sequence=1>.

¹⁶Drosophotoxicology: An Emerging Research Area for Assessing Nanoparticles Interaction with Living Organisms / M. Chifriuc et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17, no. 2. P. 36. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms17020036> (date of access: 12.11.2023).

¹⁷Lindsley, D. L., Zimm, G. G. *The Genome of Drosophila melanogaster*. San Diego: Academic Press, Inc., 1992. P. 1133. URL: <https://flybase.org/reports/FBBr0066905.html> (date of access: 11.11.2023).

¹⁸Jennings B. H. *Drosophila – a versatile model in biology & medicine. Materials Today*. 2011. Vol. 14, no. 5. P. 190–195. URL: [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(11\)70113-4](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(11)70113-4) (date of access: 12.12.2023).

механізмів реалізації генетичної інформації на усіх рівнях організації – молекулярному та клітинному, організмівому та популяційному¹⁹.

Тривале використання *D. melanogaster* у наукових дослідженнях пояснюється наявністю великої кількості спадкових рас, що уможливають моделювати генетичні експерименти та екстраполювати отримані результати на людину та ссавці завдяки схожості їхніх метаболічних систем²⁰. Результати майже вікового вивчення *D. melanogaster* дають змогу проаналізувати увесь спектр можливих мутацій і прогнозувати генетичні ситуації, які наявні у інших організмів²¹.

Останніми роками в токсикології, еко- та нанотоксикології почали особливо активно застосовувати *D. melanogaster* як складник батареї тестів для визначення реальної та потенційної мутагенної активності різних чинників²². Її використовують як тест-об'єкт для виявлення та оцінки токсичних, канцерогенних, мутагенних та протекторних властивостей широкого спектру хімічних сполук та фізичних чинників²³, скринінгу лікарських препаратів та встановленні молекулярних механізмів їх дії на живі організми²⁴.

За участю *D. melanogaster* розроблено чимала кількість тест-систем, які різняться методичними підходами та способами ідентифікації біологічного впливу досліджуваної речовини. Серед них, є тест-системи, які базуються на виявленні та визначенні частоти спонтанних неадаптивних мутацій у природних популяцій *D. melanogaster*²⁵, аналізі показників пристосованості мух (тривалість життя, плідючість, частота

¹⁹Arias A. M. *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century. *Methods Mol. Biol.* 2008. Vol. 420. P. 1–25. URL: 10.1007/978-1-59745-583-1_1 (date of access: 11.11.2023).

²⁰Discovering signaling mechanisms governing metabolism and metabolic diseases with *Drosophila* / S. K. Kim et al. *Cell Metabolism*. 2021. Vol. 33, no. 7. P. 1279–1292. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.05.018> (date of access: 15.11.2023).

²¹*Drosophila melanogaster*: a model organism to study cancer: review / Z. Mirzoyan et al. *Frontiers in Genetics*. 2019. Vol. 10, P. 1–16. URL: 10.3389/fgene.2019.00051 (date of access: 15.11.2023).

²²Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

²³Голуб Н. Я., Черник Я. І. Дослідження комплексного впливу рентгенівського опромінення та кофеїну на частоту мутування у *Drosophila melanogaster*. *Acta Carpathica*. 2015. Вип. 24. С. 159–165. URL: <http://journals.dspu.in.ua/index.php/actacarpathica/issue/view/24/24>

²⁴Pandey U. B., Nichols, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Rev.* 2011. Vol. 63, no. 2, P. 411–436. URL: 10.1124/pr.110.003293 (date of access: 15.11.2023).

²⁵A high frequency of heritable changes in natural populations of *Drosophila melanogaster* in Ukraine / I. A. Kozeretka et al. *Cytol Genet.* 2016. Vol. 50, no. 2. P. 106–109. URL: 10.3103/S0095452716020092 (date of access: 16.11.2023).

мейотичної рекомбінації на ділянці b-vg другої хромосоми) лабораторних ліній *D. melanogaster*, які були оброблені досліджуванним зразком речовини, обліку соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли за використання мутантних лабораторних ліній *D. melanogaster* з низькою мутабільністю, визначенні частоти виникнення доміантних летальних мутацій (ДЛМ) у контролі й під впливом чинників, що вивчаються у одній з ліній дрозофіли, обліку соматичних мутацій (плям) у криловому тесті (англ. *wing-spot test*)²⁶ та імагінальному криловому диску Comet-аналізом (англ. *wing imaginal disk Comet assay*)²⁷ і інші.

Тести за використання *D. melanogaster* рекомендуються Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) для дослідження токсичності та мутагенної активності антропогенних ксенобіотиків (ВООЗ, 1989). Важливою особливістю зазначеного об'єкту є те, що у процесі його метаболізму відбувається мікросомальна активація речовин, у результаті чого промутагени перетворюються у мутагени. Ця особливість уможливує виявити мутагенні властивості речовин, яких вони набувають у процесі метаболізму. Як тест-об'єкт *D. melanogaster* має низку технічних переваг порівняно з іншими моделями, вагомим для швидкого вияву ксенобіотиків у довкіллі, вивченні їхнього подальшого впливу, екстраполяції результатів досліджень на людину та інші високоорганізовані еукаріоти²⁸. Зокрема, простий для спостереження статевий диморфізм плодової мушки дає змогу легко добирати пари для розмноження, а культуральне середовище є дешевим і простим у приготуванні. Цикл розвитку *D. melanogaster* триває близько 14 днів при 20°C і вологості 60% від появи яйця до формування імаго. Одна батьківська пара, поміщена в ємність із середовищем, дає кілька десятків нащадків²⁹. Усе це уможливує застосовувати *D. melanogaster* як зручний, дешевий та простий у роботі тест-об'єкт у дослідженнях сполук різної хімічної природи та походження на генотоксичність, біологічних ефектів ксенобіотиків на онтогенез, поведінку, фертильність,

²⁶Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: [10.1016/j.mrgentox.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.12.004) (date of access: 16.11.2023).

²⁷Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols / A. Collins et al. *Nature Protocols*. 2023. URL: <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00754-y> (date of access: 17.12.2023).

²⁸Ashburner M., Golic K., Hawley R. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005. 1370 p. URL: https://books.google.com.ua/books?id=S0ZtQgAACAAJ&hl=uk&source=gbs_book_other_versions (date of access: 16.11.2023).

²⁹Stocker H. & Gallant P. Getting started: An overview on raising and handling *Drosophila*. *Methods in Molecular Biology*. 2008. Vol. 420. P. 27–44. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-583-1_2 (date of access: 16.11.2023).

плодючість, у екологічних дослідженнях – для вияву у об’єктах довкілля ксенобіотиків з мутагенною та токсичною дією, оцінці стану екосистем.

Достатньо висока чутливість *D. melanogaster* до хімічних сполук обумовила придатність її застосування в якості тест-об’єкту для скринінгу ксенобіотиків на акарицидну активність. Зокрема, Білоконь С. В. та ін. (2015), оцінили чутливість мух *D. melanogaster* до акарицидів, беручи до уваги показники їх пристосованості (тривалість життя, плодючість, частоту мейотичної рекомбінації на ділянці *b-vg* другої хромосоми). Даним тестом дослідники виявили, що такі комерційні сполуки як пірідабен і пропаргіт мають акарицидну активність, яка виражається у пригніченні кросинговеру, зниженні плодючості й тривалості життя особин *D. melanogaster*³⁰.

У багатьох дослідженнях, токсичність досліджуваних зразків (зокрема, води, витяжок ґрунтів, екстрактів рослин, препаратів синтетичного чи хімічного походження тощо) визначають за виживаністю, часом розвитку та плодючістю (кількість імаго в F₁) оброблених мух *D. melanogaster* лінії дикого типу *Oregon R(R)*. Виживаність оцінюють кількістю мух, які не загинули на 10-й день після посадки на середовище з досліджуваним зразком речовини³¹.

У низці досліджень оцінюється екологічний стан об’єктів довкілля та екосистем за рівнем спонтанної мутагенної активності серед природних популяцій *D. melanogaster*. Задля цього застосовують низку методів: фенотипові обстеження відібраних особин та їхніх нащадків³², методи обліку зчеплених зі статтю рецесивних (РЛМ) і домінантних летальних мутацій (ДЛМ) та частоти кросинговеру у локусі *yellow-cut X*-хромосоми, статистичний метод аналізу результатів³³. Запропонований спосіб оцінки екологічного стану об’єктів довкілля та виявлення у них ксенобіотиків різної природи з мутагенною активністю базуються на тому, що рівень спонтанних мутацій в природних популяціях *D. melanogaster* є сталою величиною, а присутність у

³⁰Білоконь С.В. *Drosophila melanogaster* Мг як тест-об’єкт скринінгу ксенобіотиків на акарицидну активність. *Біологічний вісник МДПУ*. 2015. № 1. С. 145–155. URL : <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/9762>.

³¹Оцінка токсичності та генотоксичності 1-(4-Хлорбензил)-3-Хлоро-4-(трифторметил-феніламіно)-1н-пірол-2,5-діона на тест системі *Drosophila melanogaster* mg. (*Diptera: Drosophilidae*) / О. В. Проценко та ін. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Том 21. С. 68–70. URL : <https://doi.org/10.7124/FEEO.v21.809>.

³²The spectrum of spontaneous mutations in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*. 2011. Vol. 9, no 1. P. 17–21. URL: http://utgis.org.ua/images/pdf/visnyk/2011/V9_N1/Visnyk-2011-t9-n1_004.pdf (date of access: 16.11.2023).

³³Mutation processes in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *Hirundo rustica* from radiation-contaminated regions of Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *Cytology and Genetics*. 2008. Vol. 42, no. 4. P. 267–271. URL: <https://doi.org/10.3103/s0095452708040099> (date of access: 16.11.2023)

екосистемах певних чинників, може призводити до появи неадаптивних мутацій³⁴. Виявлення такого типу мутацій у виловлених особин *D. melanogaster* з природних популяцій та їхніх нащадків першого – п'ятого покоління та визначення частоти мутацій та рівня мутагенності дає змогу оцінити екологічний стан екосистем³⁵.

Тест-системи з використанням *D. melanogaster* рекомендуються для вивчення токсичності, генотоксичності нанопорошків, нанопрепаратів, наноматеріалів³⁶. Вони є альтернативою тестам, у яких використовуються миші або інші ссавці, що мають обмеження через високу вартість та етичні проблеми. *D. melanogaster* набула значної популярності як динамічна еукаріотична модель для вивчення біологічних ефектів впливу наноматеріалів, включаючи окислювальний стрес, клітинну імунну відповідь, фенотипові варіації та ризики опорно-рухової поведінки³⁷. Застосовуючи *D. melanogaster* як тест-об'єкт, Демір Ф. (2022) оцінив потенційні ризики впливу графену (товщиною 2–18 нм) й багат шарових вуглецевих нанотрубок (MWCNTs) як чистому вигляді [OD: 10–20 nm] так і хімічно модифікованих амідом [NH₂] [товщиною 7–13 нм; довжиною 55 мкм] і карбоксилем [COOH] [товщиною: 30–50 нм; довжиною 0,5–2 мкм] у діапазоні концентрацій від 0,1 до 250 мкг/мл, а також встановив, що значні біологічні ефекти спостерігаються лише при вищих дозах (100 і 250 мкг/мл) графену або MWCNT³⁸.

Останніми роками у генотоксикологічних дослідженнях для виявлення генетичних змін, що індукуються наносполуками на молекулярному рівні, застосовується SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) – тест на соматичні мутації та рекомбінації у

³⁴Кунда-Пронь І. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* м. Дрогобича. *Актуальні питання гуманітарних наук*. 2014. № 8. С. 400–403. URL: https://dspu.edu.ua/sites/youngsc/AQGS/2014_8/ecology/400-403.pdf.

³⁵Явище “мутаційного спалаху” у природних популяціях *Drosophila melanogaster* України / І. А. Козерецька. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2013. Вип. 12. С. 127–129. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2013_12_32 (date of access: 17.11.2023).

³⁶Demir E., Demir F., Marcos R. (2022). *Drosophila* as a Suitable *in vivo* model in the safety assessment of nanomaterials. *Adv Exp Med Biol.*, 2022. Vol. 1357. P. 275–301. URL : 10.1007/978-3-030-88071-2_12 (date of access: 17.11.2023).

³⁷Demir E. & Demir F. *Drosophila melanogaster* as a dynamic *in vivo* model organism reveals the hidden effects of interactions between microplastic/nanoplastic and heavy metals. *J. Appl. Toxicol.* 2023. Vol. 43, no 2. P. 212–219. URL : <https://doi.org/10.1002/jat.4353> (date of access: 18.11.2023).

³⁸Demir E. Mechanisms and biological impacts of graphene and multi-walled carbon nanotubes on *Drosophila melanogaster*: Oxidative stress, genotoxic damage, phenotypic variations, locomotor behavior, parasitoid resistance, and cellular immune response. *Journal of Applied Toxicology*, 2022. Vol. 42. P. 450–474. URL : <https://doi.org/10.1002/jat.4232> (date of access: 18.11.2023).

D. melanogaster та метод ДНК-комет (Comet-assay)³⁹. Зазначені тести були застосовані для вивчення біологічних ефектів мікропластику/наноластику (microplastic/ nanoplastic, MNPLs), які потрапляють в середовище внаслідок розпаду відходів пластику. Останні можуть бути переносниками різних токсичних мікроелементів, що складає значну екологічну проблему світового масштабу, пов'язану з ризиками для здоров'я людей⁴⁰.

D. melanogaster рекомендується як зручна модельна система для вивчення генотоксичних ризиків *in vivo*, пов'язаних із впливом наночастинок. Зокрема, Демір Ф. та Демір І. (2022) на личинках III віку *D. melanogaster* дослідили токсичність та генотоксичність наночастинок титану (I) оксиду (нано-TiO₂), який використовується для приготування косметичних засобів, сонцезахисних кремів, засобів особистої гігієни, деяких продуктів харчування. Застовуючи сумісно два тести – криловий (англ. wing-spot test) і метод ДНК-комет, дослідники описали цитотоксичні ефекти, спричинені нано-TiO₂, а також встановили відсутність їх генотоксичності у криловому тесті. Вони ж зазначають доцільність використання більш як однієї тест-системи для об'єктивної оцінки генотоксичного потенціалу наноматеріалів.⁴¹

Генотоксичність деяких ксенобіотиків досліджують у тесті на репарацію ДНК (англ. DNA reparation test), у якому застосовується спеціальна мутантна лінія *D. melanogaster mei-9a mei-41D5 / FM7c mwh* (гени *mei-9a* та *mei-41 D5* розташовані в X-хромосомі (лінія отримана з Kyoto Stock Center), мутації в них спричиняють дефекти в ексцизійній та постреплікативній репарації, відповідно. Мутації, які індукуються у гені *mwh* (локалізується у хромосомі-3) під впливом досліджуваних ксенобіотиків, спричиняють формування множинних волосків у клітинах міжжилкового простору крила. Для постановки цього тесту, поміщають віргінних самок мутантної лінії та самців лінії дикого типу *Oregon R(R)* в культуральне середовище з досліджуванним ксенобіотиком. За таких умов, увесь життєвий цикл нащадків проходить під його впливом. Згодом проводять аналіз нащадків першого покоління (F₁), яких розділяють на три фенотипові класи: 1) самки (f, female) з червоними очима округлої форми або полосковидними (зменшена

³⁹Guzmán-Rincón, J., Ramírez-Victoria P., Benitez L. Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila* Used for Biomonitoring of Environmental Pollutants / *Biomonitor and Biomarkers as Indicators of Environmental*. 2001. Vol 56. P. 221–237. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-1305-6_13 (date of access: 18.11.2023).

⁴⁰Potential health impact of environmental micro- and nanoplastics pollution / X. Chang et al. *Journal of Applied Toxicology*. 2019. Vol. 40, no. 1. P. 4–15. URL: <https://doi.org/10.1002/jat.3915> (date of access: 18.11.2023).

⁴¹Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: [10.1016/j.mrgentox.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.12.004) (date of access: 18.11.2023).

кількість фасеток ока в результаті мутації *Bar*); 2) самці (m, male 1) з жовтими округлими очима, які характеризуються порушенням системи репарації ДНК; 3) самці (m 2) з білими полосковидними очима та непорушеною системою репарації. Виживання кожного класу мух оцінюється як відношення кількості мух у досліджуваній культурі до показників, отриманих у контролі. Тестований зразок речовини оцінюється як мутагенний, якщо відношення виживання особин зазначених класів, $m\ 1 / f\ 1$ / $m\ 2$, є меншим як 0,1 і 1, відповідно⁴².

D. melanogaster як модельний об'єкт застосовується у низці інших методів, в яких оцінюється токсичність та мутагенність різних хімічних і фізичних чинників. До них належить: метод Меллер-5 (базується на виявленні і кількісному обліку рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли); метод-CLB (призначений для виявлення рецесивних леталей в аутосомах; передбачає застосування ліній-аналізаторів зі збалансованими летелями по другій і третій хромосомах і інверсіях, наприклад, *CyL/Pm* і *D/Sb*); метод зчеплених X-хромосом (базується на визначенні частоти видимих мутацій і великих делецій в X-хромосомі); метод домінантних леталей (ДЛМ-тест) базується на визначенні частоти виникнення зигот з анеуплоїдією або зигот з великими хромосомними перебудовами⁴³.

2. Методологічні аспекти застосування тест-систем на основі *Drosophila melanogaster* для оцінки токсичності ксенобіотиків та екологічного стану об'єктів довкілля

Для оцінки екологічного стану об'єктів довкілля (зокрема, поверхневих вод річок, джерел, криниць, ґрунтів техногенно– та антропогенно-навантажених екосистем), а також біологічної ефективності та можливих негативних побічних впливів ксенобіотиків, широко застосовують методи біотестування на основі модельного генетичного об'єкту *D. melanogaster*⁴⁴. Завдяки достатньо відомому генетичному контролю основних етапів онтогенезу *D. melanogaster*, такі тест-системи дають змогу виявляти полютанти та ксенобіотики гонадотоксичної, ембріотоксичної, тератогенної й канцерогенної дії.

⁴²Genotoxic potency in *Drosophila melanogaster* of selected aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons as assayed in the DNA repair test / K. Fujikawa et al. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1993. Vol. 290, no. 2. P. 175–182. URL: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(93\)90157-b](https://doi.org/10.1016/0027-5107(93)90157-b) (date of access: 19.11.2023).

⁴³Білоконь С.В., Алексеева Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

⁴⁴Gaivão I., Ferreira J. & Sierra L. M. Recombination test (SMART) of *Drosophila melanogaster* for detecting antigenotoxic activity. *Genotoxicity and Mutagenicity – Mechanisms and Test Methods*. Intechopen, 2020. URL: 10.5772/intechopen.91630.

При постановці таких тестів дотримуються певних методологічних підходів, які можуть бути модифіковані залежно від мети дослідження. На першому етапі, більшість тест-систем передбачають обробку *D. melanogaster* досліджуваними зразками речовин⁴⁵.

Способи обробки *D. melanogaster*. Описано три основних шляхи введення тестованого зразка речовини: ін'єкційний, інгаляційний та пероральний. У разі дослідження зразків води рекомендується застосовувати пероральне введення. Описано два способи: 1-ий) обробка імаго: віргінних самиць *D. melanogaster* поміщають у пробірки, в яких знаходиться фільтрувальний папір, змочений зразком води чи розчином препарату, який містить 5% розчин глюкози. Контрольну групу мух поміщають у пробірки, що містять фільтрувальний папір, змочений водним 5% розчином глюкози (негативний контроль). Позитивним контролем слугує будь-який супермутаген, зокрема, нітрозометилсечовина. Кількість рідини тестованого зразка води чи препарату речовини підбирають емпірично з розрахунку ємності посуду та кількості мух. Експозиція обробки мух – 72 год. У разі високої токсичності тестованого зразка води чи препарату речовини час експозиції рекомендується зменшити до 48 год. Спосіб 2-ий) обробку мух здійснюють у плоскодонних пробірках, призначених для розведення дрозофіли. У пробірки заливають середовище об'ємом 5 мл. На його поверхню наносять 0,2 мл дріжджової суспензії, яка містить 4 г пекарських дріжджів у 10 мл тест-зразка речовини (негативний контроль містить дистильовану воду, позитивний – нітрозометилсечовину). Через добу у них поміщають віргінних мух (по 20 особин у кожному пробірці), самок і самців окремо. Рекомендована експозиція – 72 год. У випадку малорозчинності тестованої речовини у воді, можливе (при обов'язковій постановці відповідних контролів) її розчинення в етанолі (кінцева концентрація має бути не більше 2%).

Для оцінки мутагенності наркотичних газів використовується, як правило, інгаляційний спосіб введення. У цьому разі, обробку мух здійснюють в ексикаторах, розраховуючи дозу газоподібної речовини на об'єм ексикатора. Іноді, досліджуваний препарат вводять скляним капіляром поміж 4 та 5 сегментами черевця імаго дрозофіли. Однак значної різниці у визначенні мутагенності речовини залежно від способу її введення не виявлено. Тому у дослідженнях токсичності та мутагенності зразків води чи препаратів речовин рекомендується

⁴⁵Білоконь С.В., Алексєєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

пероральне введення як основний спосіб обробки особин *D. melanogaster*⁴⁶.

Вибір доз та експозиції при обробці *D. melanogaster* досліджуваними зразками води чи препаратами речовин. Залежно від ступеня токсичності, експозиція (тривалість обробки) може тривати від кількох годин до кількох днів (найчастіше, 48–72 год). Токсичність тест-зразків визначають за виживанням самок, яка має бути $\approx 50\%$. Напівлетальну дозу (Lt_{50}) тест-зразка води/речовини визначають із застосуванням щонайменше трьох відмінних концентрацій (тест-зразок розводять дистильованою водою). Саме таку дозу (Lt_{50}) рекомендується використовувати у подальших дослідженнях. У разі сильно вираженого стерилізуючого ефекту тестованого зразка, рекомендується знижувати його концентрацію, або, за наявності статистично значущого ефекту (тоді дослідження здійснюють на вдвічі менших дозах). Після встановлення токсичності зразка води/речовини та діапазону токсичних концентрацій, далі досліджують її на мутагенність (генотоксичність)⁴⁷.

Оцінити генотоксичність тестованих зразків води чи речовин *in vivo* на моделі *D. melanogaster* можна за допомогою різних тестів, які потрібно проводити паралельно та одночасно⁴⁸. До них належать: метод обліку домінуючих летальних мутацій; облік рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли (метод Меллер-5); метод обліку соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли, тест на соматичні мутації та рекомбінації (*Somatic Mutation and Recombination test*). Достатньо обґрунтований висновок щодо мутагенності та генотоксичності тестованого зразка речовини можна зробити лише за результатами кількох зазначених вище тестів. Окрім них, описано низку інших методів, які також ефективно застосовуються для визначення генотоксичності речовин, зокрема, метод визначення частоти нерівного кросингверу за мутаціями ознаки смужковидності очей (Bar), криловий

⁴⁶Білоконь С.В., Алексеева Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

⁴⁷Budiyanti D. S., Moeller M. E., Thit A. Influence of copper treatment on bioaccumulation, survival, behavior, and fecundity in the fruit fly *Drosophila melanogaster*: Toxicity of copper oxide nanoparticles differ from dissolved copper. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2022. Vol. 92. P. 103852. URL: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103852> (date of access: 19.11.2023).

⁴⁸Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

метод, Метод ДНК-комет(англ. Comet-assay), метод обліку соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли⁴⁹.

Метод обліку домінантних летальних мутацій (ДЛМ-test) дає змогу виявляти індуковані генетичні зміни у зародкових клітинах батьківських особин, що ведуть до загибелі нащадків на різних стадіях ембріонального розвитку. Тому даний тест є придатний для визначення ембріотоксичності речовин, які індукують домінантні летальні мутації (ДЛМ). Останні є результатом анеуплоїдій, значних перебудов хромосом, ушкоджень важливих цитоплазматичних структур, порушення реплікації і, частково, генних мутацій. У ДЛМ-тесті використовують низькомутагенні лінії дикого типу дрозофіли *D. melanogaster Oregon-R, Canton-S, Домодедівська-32 (D-32)* та інші⁵⁰.

У ДЛМ-тесті досліджуваною речовиною обробляють перорально самців дикого типу однієї із зазначених вище ліній *D. melanogaster*: у пробірки заливають живильне середовище та наносять на його поверхню суспензію пекарських дріжджів з тестованим зразком речовини (дослід) чи дистильованою водою (контроль). Експозицію мух здійснюють 72 години (3 доби), далі їх переносять у пробірки з живильним середовищем для схрещування (по 10 самців і самиць). Для обліку ДЛМ готують спеціальне середовище “чорні агарові пластинки” (рис. 1). Для його приготування беруть 3 г агар-агару та 3 г цукру, розчиняють у 100 мл дистильованої води та кип’ячать до повного припинення піноутворення; розтирають у ступці 1 таблетку активованого вугілля і додають (перемішуючи) у середовище, що кипить. Гаряче середовище розливають тонким шаром (3 мм) у чашки Петрі, охолоджують до кімнатної температури та наносять суспензію дріжджів. Чашки накривають і витримують добу при температурі $22\pm 3^{\circ}\text{C}$. Наступного дня поміщають 10 самок та інкубують в термостаті при $22\pm 3^{\circ}\text{C}$. Через 8 годин їх усувають та рахують кількість відкладених яєць. ДЛМ виявляють на початкових стадіях розвитку I покоління мух дрозофіли.

⁴⁹Carmona E., García-Rodríguez A., Marcos R. Genotoxicity of copper and nickel nanoparticles in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *J Toxicol*. 2018. Vol. 19. P. 7278036. URL: 10.1016/j.mrgentox.2014.12.004 (date of access: 18.11.2023).

⁵⁰Голуб Н. Я., Черник Я. І. Дослідження комплексного впливу рентгенівського опромінення та кофеїну на частоту мутування у *Drosophila melanogaster*. *Acta Carpathica*. 2015. Вип. 24. С. 159–165. URL: <http://journals.dspu.in.ua/index.php/actacarpathica/issue/view/24/24>.

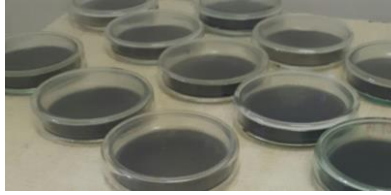


Рис. 1. Вигляд чашок Петрі, що містять спеціальне середовище «чорні агарові пластинки»



Рис. 2. Стереомікроскопія «чорних агарових пластинок»

Облік ДЛМ на “чорних агарових пластинках” здійснюють через 48 та 72 годин з моменту яйцекладки за допомогою стереомікроскопа (рис. 2). До цього часу з яєць, що нормально розвинулися, виходять личинки. Личинки та яйця, які ще не розвинулися, вважають нормою. Аномальні яйця поділяють за кольором на три типи: прозорі – незапліднені; матові – рання ембріональна загибель (перші 9 годин ембріонального розвитку); забарвлені (від жовтих до коричневих) – пізня ембріональна загибель (рис. 3).

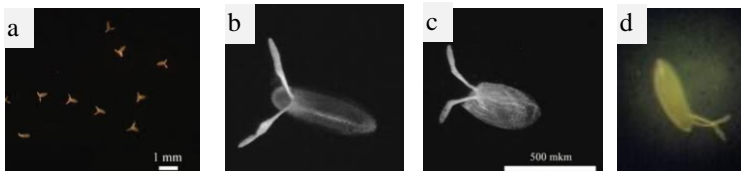


Рис. 3. Вигляд яєць *D. melanogaster* з різним типом забарвлення: а – вигляд яєць на поверхні «чорних агарових пластинок»; б – прозорі незапліднені яйця; с – матові запліднені яйця (з Білоконь С. В., 2020), d – жовті запліднені яйця

Частоту ДЛМ (F_{DLM}) у тесті обчислюють за формулою:

$$F_{DLM} = (N_{DLM} / N_0) \cdot 100\%, \text{ де}$$

F_{DLM} – частота ДЛМ у відсотках; N_{DLM} – кількість яєць з ДЛМ;
 N_0 – кількість запліднених яєць

Висновок про наявність або відсутність генотоксичності досліджуваного зразка здійснюють на підставі встановлення вірогідності підвищення частоти ДЛМ у досліді порівняно з контролем за критерієм Стьюдента⁵¹.

Метод обліку рецесивних, зчеплених зі статтю, летальних мутацій у дрозофіли (інакше, метод Меллер-5, англ. Muller-5) дає змогу оцінити тестований зразок води (препарат речовини, чи продукти її розпаду) на здатність індукувати генні мутації у зародкових клітинах *D. melanogaster*. Метод Меллер-5 базується на ідентифікації рецесивних летальних мутацій (RLM) в X-хромосомі самців мух лінії дикого типу, які індукуються тест-зразком. Ці мутації передаються через самок F₁ їхнім самцям-нащадкам F₂, що не доживають до стадії імаго. У даному методі використовується лабораторна лінія мух дикого типу *D. melanogaster* з добре вивченим спонтанним фоном мутабільності, зокрема, *Oregon-R*, *Canton-S* або *D-32*. Тестером є мутантна лінія *D. melanogaster* *BASC*, у якої X-хромосома містить дві інверсії – *sc8* і *d49*, які унеможливають кросинговер, але водночас не порушують життєздатності мух. Фенотиповими маркерами особин *D. melanogaster* лінії *BASC* є мутації *apricot* (абрикосові очі) і *Bar* (смушкоподібні очі)⁵².

Для постановки досліді методом Меллер-5 поміщають самців лінії мух дикого типу на поживне середовище, що містить тестований зразок. Через 48 годин схрещують оброблених самців з віргінними самками *D. melanogaster* *BASC*-лінії (5 ♂ x 10 ♀). Інкують пробірки з мухами у термостаті при 22±3 °C до появи першого покоління (F₁), із яких відбирають віргінних гетерозиготних самок (фенотип дикого типу) та індивідуально схрещують їх з самцями F₁. Кожна пробірка з нащадками F₂ візуалізується окремо, щоб виявити такі, у яких відсутні самці дикого фенотипу (з червоними очима). Загальна кількість пробірок з культурою дрозофіл рівна числу проаналізованих X-хромосом самців, які зазнали впливу тестованого зразка води чи речовини. Пробірки, у яких відсутні самці дикого типу, вважають “деталлями”. У кожній серії досліді обов’язково потрібно поставити контроль.

Частоту РЛМ обчислюють як відношення числа пробірок з культурою дрозофіл другого покоління (F₂), у яких відсутні самці дикого фенотипу до загальної кількості пробірок у досліді. Рекомендується закласти не менше 100 пробірок з культурою пар дрозофіл на F₂ з однією досліджуваною концентрацією речовини. Для оцінки значущості

⁵¹Білоконь С.В., Алексеєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

⁵²Hartwell L. H. et al. (2004). Reference D: *Drosophila melanogaster*: genetic portrait of the fruit fly. *Genetics: from Genes to Genomes*. McGraw-Hill, 2004. P. 813–838.

збільшення частоти рецесивних леталей в досліді порівняно з контролем потрібно застосовувати F-критерій Фішера. Різниця між дослідом і контролем вважається значущою при $p < 0,01$ ⁵³.

Тест на зчеплені зі статтю летальні мутації у *D. melanogaster* вважається найбільш чутливим і надійним у дослідженнях на дрозофілі й дає змогу виявити хімічні сполуки, які здатні індукувати спадкові генетичні порушення: точкові мутації, делеції, різні перебудови. У модифікованому варіанті цього тесту застосовують мутантну лінію *D. melanogaster* C(1)DX з фізично зчепленими X-хромосомами (марковані рецесивною мутацією yellow (y, 1–0,0) та лінію дикого типу (Canton S). Зазначений тест є придатний для оцінки рівня токсичності водних витяжок ґрунтів агроecosystem, забруднених важкими металами чи радіоактивними речовинами⁵⁴. При постановці тесту самців дикого типу спочатку поміщають на середовище, яке містить тест-зразок (витяжку ґрунту), а потім схрещують з віргінними самками лінії C(1)DX на стандартному поживному середовищі. Аналізують фенотип нащадків першого покоління. Статистичну обробку проводять методом χ^2 . Для дослідження зразків води, речовин чи політантів з рекомбіногенною активністю, зазначений тест рекомендується поєднувати з іншими тестами на визначення частоти рекомбінації у статевій хромосомі *D. melanogaster* мутантних ліній⁵⁵.

Тести на визначення частоти рекомбінації у хромосомах *D. melanogaster*. У багатьох дослідженнях описана значна кількість чинників різної природи, які опосередковано чи прямо впливають на частоту кросинговеру, знижуючи чи підвищуючи його перебіг. Для вияву речовин, ксенобіотів, а також політантів з рекомбіногенною активністю розроблено тест-системи за використанням *D. melanogaster*, які різняться методологічними підходами, технікою постановки та тесторними лініями. До них належать: тест на визначення частоти рекомбінації у статевих хромосомах *D. melanogaster* на ділянці між генами *w* і *ct*; метод обліку соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофілі; метод визначення частоти нерівного кросинговеру за

⁵³Ashburner M., Golic K., Hawley R. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005. P. 37 – 101. URL: https://books.google.com.ua/books?id=S0ZtQgAACAAJ&hl=uk&source=gbs_book_other_versions.

⁵⁴Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

⁵⁵Дослідження опосередкованого впливу важких металів на генетичні процеси у *Drosophila melanogaster* / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Київ. національного університету імені Т. Шевченка*. 2005. Вип. 46. С. 29–31. URL: http://www.library.univ.kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/biolog_45-46_2005.pdf

мутаціями ознаки смужковидності очей (*Bar*); Somatic Mutation and Recombination Test (*SMART*)⁵⁶.

Тест на визначення частоти рекомбінації у статевих хромосомах *D. melanogaster* на ділянці між генами *w* і *ct*. У цьому тесті використовують лінію дикого типу *Canton S* і мутантну лінію *wct*. Самців дикого типу схрещують з віргінними самками мутантної лінії на середовищі, що містить тест-зразок речовини. Нашадків I покоління (F_1) переносять на стандартне живильне середовище. Обчислюють частоту кросинговеру у нащадків другого покоління F_2

Значений тест є придатним для аналізу генетичної активності не тільки зразків води, препаратів речовин, але й водних витяжок ґрунтів, що містять солі важких металів. Зокрема, Мариненко Т.В. та інш. (2008) встановили, що внесення в ґрунт свинцю в кількості 200 мг/кг ґрунту призводить до зниження частоти рекомбінації між X-хромосомами *D. melanogaster* на ділянці між генами *w* і *ct*. У дослідженнях водних витяжок ґрунту на генотоксичність вони виявили, що даний тест є більш показовим порівняно з методом атомної абсорбції. Тому дослідники рекомендують поглиблювати дослідження агроландшафтів з використанням *D. melanogaster* як біотестора генотоксичності ґрунтів, оскільки це дає можливість виявити екологічний дисбаланс у системі на первинних етапах забруднення компонентів агросистем й локалізувати їх на першій ланці трофічного ланцюга – ґрунті⁵⁷.

Метод обліку соматичної рекомбінації (мозаїцизму) у дрозофіли широко застосовується для визначення генотоксичності чинників різної природи. Даний метод інтегрально виявляє рекомбінаційні та інші мутаційні події, індуковані досліджуванним чинником, речовиною або її метаболітами у соматичних клітинах личинок дрозофіли. Основною методу є облік мозаїчних плям, що виникають у мух тестерної лінії *D. melanogaster* як результат комплексного порушення генотипу: мітотичної рекомбінації, втрати хромосом і/або їхніх фрагментів, транслокацій, делецій і генних мутацій. Маркерами тестерної лінії *D. melanogaster* є рецесивні гени "y" і "sn" в транс-положенні (гени *y+* / *y* – визначають сіре і жовте забарвлення тіла, а гени *sn+* / *sn* – нормальні і "обпалені" щетинки). Мозаїчне забарвлення мух *D. melanogaster* є наслідком соматичного кросинговеру (відбувається рідше аніж мейотичний, зазвичай на 2-3 порядки) на стадії 4-х хроматид, частота

⁵⁶Developmental Toxicity Assays Using the Drosophila Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.11.2023).

⁵⁷Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

якого може зростати під впливом тест-зразка. У результаті, соматичні клітини мозаїчних плям мух матимуть наступні фенотипи – жовте тіло з нормальними щетинками і сіре тіло з «обпаленими щетинками», що відповідає генотипам ($ysn+/ysn+$ та $y+sn/y+sn$, відповідно)⁵⁸.

У зазначеному методі використовують дві тестерні лінії дрозофіл: лінію *yellow* (генотип y/y : y – рецесивний ген, що обумовлює розвиток жовтого забарвлення тіла) та лінію *wsn* (генотип $w\ sn/Y$: w (*white*) – ген білого кольору очей, sn (*singed*) – ген “обпалених” щетинок, обидва гени рецесивні). Для постановки досліду поміщають 5 віргінних самок лінії *yellow* та 2 самці лінії *wsn* у флакони, що містять живильне середовище (4,5 г агару, 40 г дріжджів, 13 г манної крупи, 13 г цукру) та інкубують при 24 °С. Через 48–72 годин їх переносять у флакони зі свіжим середовищем, а у флакони, де вони відклали яйця, вносять розчини тестованих зразків речовини (у контролі – 0,2 мл фізіологічного розчину на 5 мл середовища). Через 9-10 діб візуалізують фенотип нащадків за допомогою стереомікроскопа. Рахують загальну кількість оглянутих самок, число самок з поодинокими і подвійними мозаїчними плямами: мутантні щетинки (макрохети на тораксі, голові і скутеллюмі) фенотипу *singed* і появу плям і щетинок на тілі мух фенотипу *yellow*. При статистичній обробці даних значимість відмінностей для показника частоти появи самок з мутаціями оцінюють за критерієм χ^2 з поправкою Йетса (застосовується тільки для таблиць 2×2). Для 5 % рівня значущості критичне значення χ^2 становить 3,84⁵⁹.

Метод визначення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки Bar. Даний метод дає змогу визначити генотоксичність чинника хімічної чи фізичної природи за частотою мутацій у лабораторній лінії *D. melanogaster* Meig. Лінією-тестером слугує генетично нестабільна мутантна лінія *Bar* (смужковидні очі). Мутація *Bar* (*B*) (локалізація 1-57.0) – тандемна дуплікація локусу 16A1-16A7, фенотипово проявляється в редукції очей до вузької вертикальної смужки з кількістю фасеток біля 90 у самців та 70 у самок, на відміну від нормальної кількості біля 740 і 780 фасеток для самців і самок, відповідно. Внаслідок рекомбінації між копіями генів в межах дуплікації *Bar* як спонтанно так і під впливом генотоксикантів утворюються нереципрокні рекомбінантні хромосоми з трьома (*Double Bar* (*BD*), або *Ultrabar* (*BB*)) і однією (реверсія до нормального фенотипу) копіями гену відповідно.

⁵⁸Developmental Toxicity Assays Using the Drosophila Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

⁵⁹Білоконь С.В., Алексєєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нап. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

Генотоксична дія тестованого чинника може порушити кросинговер між гомологічними хромосомами, внаслідок чого збільшується частота нереципрокнутої гомологічної рекомбінації у локусі *Bar*, і, відповідно, зростає частота мутацій за цією ознакою. Особини з нереципрокними рекомбінантними хромосомами мають мутантний ($B/+$, BB/Y , BB/B) і нормальний ($+/Y$) фенотип. Самки $B/+$ мають близько 350 фасеток і виїмку на передньому краї ока. У мутантів *Double Bar* (BB) кількість очних фасеток зменшена приблизно до 45 (у гетерозигот BB/B) і до 25 (у гемізигот BB/Y). Особливістю даного методу є те, що дію досліджуваного чинника можна застосовувати на різних стадіях онтогенезу дрозофіли: у ембріональний період, на стадії личинки, лялечки чи імаго. Тестований зразок речовини можна вносити у живильне середовище для личинок. Після обробки тест-речовиною самиць мутантної лінії *Bar* у їх наступному поколінні досліджують частоту нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar*. Даний метод дає змогу оцінити генотоксичну, або можливу генопротекторну дію чинника, порівняти дію різних доз чинника, а також сумісну дію двох чи кількох чинників⁶⁰.

При постановці цього методу відбирають 10–20 віргінних самок лінії *Bar* 3-денного віку та поміщають у флакони, що містять типове живильне середовище та тестований зразок речовини чи води. Через 48 год експозиції, оброблених самок переносять на живильне середовище та схрещують з 3–5-денними самцями. У їхніх нащадків (F_1) досліджують частоту мутацій за фенотиповою ознакою *Bar*. Частоту *Bar*-мутацій обчислюють як відношення кількості мутантів (самці дикого типу ($+/Y$), самки з “серцевидними” очима ($B/+$) – мають біля 350 фасеток і виїмку на передньому краї ока, *Double Bar* (BB) зі зменшеною кількістю очних фасеток по відношенню до *Bar*) до загального числа проаналізованих нащадків. Постановка контролю є обов’язковою, зважаючи на те, що у *D. melanogaster* близько 80% так званих спонтанних мутацій виникає під впливом нестабільних елементів геному. Висновок про наявність чи відсутність генотоксичної дії тест-зразка речовини чи води роблять на основі порівняння частоти мутацій у досліді стосовно контролю (містить дистильовану воду)⁶¹.

Тест на соматичні мутації та рекомбінації (*Somatic Mutation and Recombination Test, SMART*) може бути використаний для оцінки

⁶⁰Developmental Toxicity Assays Using the Drosophila Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

⁶¹Білоконь С.В., Алексеева Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

впливу на геном *D. melanogaster* як тест-об'єкту різних чинників: фізичних (температура, різні типи радіоактивного випромінювання, електромагнітні поля), біогенних (генетичні, фізіологічні, інфекційні), хімічних. SMART включає постановку двох тестів: репараційного і *wing-spot test* на соматичні мутації.

Тест на репарацію ДНК уможливорює вияв генотоксичної активності речовин за летальністю мух, чутливих та дефектних по репарації ДНК, порівняно з мухами нормального генотипу⁶². Тест-аналіз фенотипу крил (*wing-spot test*) мух базується на визначенні втрати гетерозиготності, яка зумовлюється різними змінами (соматичні мутації, хромосомні делеції чи рекомбінації), що індукуються досліджуваною речовиною. Оцінюють токсичність досліджуваної речовини у *wing-spot* тесті за частотою мутантних плям крила мух дрозофіли⁶³.

У SMART застосовують спеціальну мутантну лінію *D. melanogaster* 1096111, у якій X-хромосоми представлені двома типами: I тип – X-хромосома, дефектна по генам ДНК-репарацій (*sc z [1] w [+ (TE)] mei-9 [a] mei-41 [D5]*), II тип – Хромосома – балансер (*In (1) FM7 y [31D] sc [8] dm B /* (далі позначається як (*FM7 / mei-9 mei-41*)). Гени X-хромосоми, *mei-9 [a]* і *mei-41 [D5]*, є мутаціями, що спричиняють дефектність ексцизійної і постреплікативної репарації, відповідно. Третя хромосома цієї лінії має маркерну мутацію *multiple wing hair (mwh)* кутикули крила, що спричиняє формування множинних волосків у клітинах міжжилкового простору крила. Для репараційного відновлення ДНК, лінія 1096111 має такі чотири генотипи мух: 1) самки *mei-9 mei-41 / mei-9 mei-41* (дефектні по ДНК-репарації) 2) самки *FM7 / mei-9 mei-41* (здатні до ДНК-репарації); 3) самці *mei-9 mei-41 / Y* (дефектні по ДНК-репарації); 4) самці *FM7 / Y* (здатні до ДНК-репарації).

Можливий токсичний ефект тестованого зразка досліджують у тесті на репарацію ДНК. У комбінованому дослідженні самок *FM7 / mei-9 mei-41*; *mwh / mwh* спаровують з самцями дикого типу. Личинки F_1 обробляють тест-зразком речовини. Для підвищення чутливості зазначеного тесту до мутагенів / канцерогенів, які потребують метаболічної активації, рекомендується застосовувати самці лінії дикого типу (*Oregon R* або *Canton S*) з високою інсектицидною стійкістю.

Для постановки досліду окремо готують самок з генотипом *mei-9a mei-41 / FM7c*; *mwh* та самців дикого типу (наприклад, з лінії *Canton S*). Оскільки схрещування проводять в пробірках, що містить стандартне

⁶²Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*/ M. Furlanetto et al. 2007. Vol. 48, no 1. P. 67–70. URL: 10.1002/em.20275 (date of access: 15.11.2023).

⁶³Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* / U. Graf et al. *Environ Mutagen*. 1984. Vol. 6, no 2. P. 153-88. URL: 10.1002/em.2860060206 (date of access: 15.11.2023).

середовище + тест-зразок речовини, тому увесь життєвий цикл отриманих нащадків зазнає його впливу. Імаго отриманих нащадків F₁ використовують у двох інших тестах – репараційному і криловому тесті (англ. wing-spot test)⁶⁴.

Репараційний тест (англ. DNA repair test) передбачає аналіз фенотипів імаго F₁ із реєстрацією таких класів: 1) самки, які мають червоні очі округлої форми або прояви мутації *Bar* (зменшена кількість фасеток ока) – (*f* – *female*); 2) самці, які мають порушення систем репарації ДНК, а також жовті очі (*m* – *male* 1); 3) самці з неперушеною системою репарації та білі очі *Bar* (*m* – *male* 2). Вживання кожного класу мух оцінюється як відносне число мух у дослідній культурі до числа мух у контрольній культурі. Досліджувана речовина вважається мутагенною (позитивний результат тесту), якщо відношення виживання особин зазначених класів m1/f і m1/m2 є меншим як 0,1 і 1, відповідно⁶⁵.

Криловий тест (англ. wing-spot test) базується на аналізі морфологічних мутацій у клітинах крила *D. melanogaster*. Нормальне крило особин *D. melanogaster* має 24400 клітин, розміщені двошарово, і кожна з них має одну трихому (рис. 4). У клітинах, під час розвитку імагінальних дисків зачатка крила, може відбутися рекомбінаційна чи мутаційна подія під дією посторонніх чинників. Такі події можуть призвести до утворення мутантних плям – клонів, які візуалізуються мікроскопуванням поверхні пластинки крила. До того ж, чим раніше в онтогенезі мухи відбулись такі події, тим більша кількість клітин з мутантними щетинками буде мати крило імаго. У криловому тесті аналізують зразки крил особин F₁, гетерозиготних (за геном *mwh*) самок з червоними щілиноподібними очима. Крила дрозофіл ретельно мікроскопують (x400) у пошуку мутантних *mwh*-плям – множинних щетинок-трихом замість однієї у норми. Мутантна пляма *mwh* вважається “малою плямою”, якщо складається з однієї або двох мутантних клітин і “великою плямою”, якщо складається з 3-х або більше мутантних клітин (рис. 5).

⁶⁴Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: 10.1016/j.mrgentox.2014.12.004 (date of access: 16.11.2023).

⁶⁵Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*/ M. Furlanetto et al. 2007. Vol. 48, no 1. P. 67–70. URL: 10.1002/em.20275 (date of access: 15.11.2023).

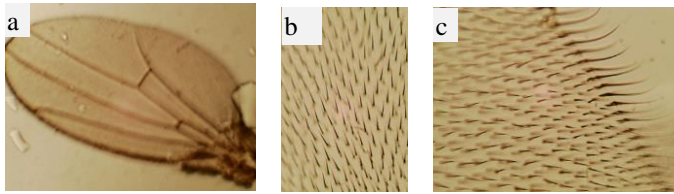


Рис. 4. Нормальне крило (а), фрагмент поверхні (b) та краю пластинки крила (с) *D. melanogaster* (×400)

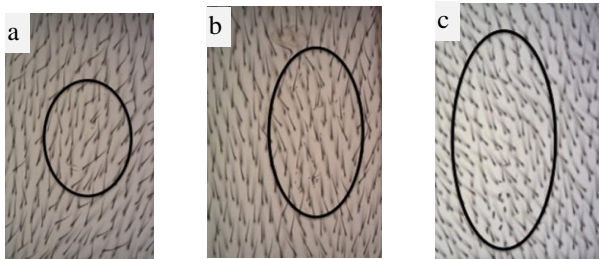


Рис. 5. Типові мутантні плями на поверхні крила *D. melanogaster* у криловому тесті (англ. wing-spot test) (×400): мала одиночна пляма (а); велика одиночна пляма (b); подвійна пляма (с) (з Carmona E. R., 2016)

Для отримання достовірних даних, рекомендується оглянути не менше 100 крил у негативній контрольній групі, 50 крил для кожної концентрації в групі тестованої речовини і 10 крил в позитивній контрольній групі⁶⁶.

Метод ДНК-комет (англ. Comet assay, інакше single-cell gel electrophoresis) є молекулярно-генетичним методом, який широко використовується для оцінки генотоксичності речовин⁶⁷. Поєднання методу ДНК-комет з криловим тестом (*wing-spot test*), дає змогу точніше визначити вплив тестованої речовини на мутантні клони та виявити види

⁶⁶Genotoxic and oxidative stress potential of nanosized and bulk zinc oxide particles in *Drosophila melanogaster* / E. Carmona et al. *Toxicol and Health*. 2016. Vol. 32, no 12. P. 1987-2001. URL: 10.1177/0748233715599472(date of access: 18.11.2023).

⁶⁷Single cell gel/comet assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing / R. R. Tice et al. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2000. Vol. 35, no. 3. P. 206–221. URL: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2280\(2000\)35:3%3C206::aid-em8%3E3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3%3C206::aid-em8%3E3.0.co;2-j) (date of access: 19.11.2023).

ушкоджень ДНК в клітинах *D. melanogaster*⁶⁸. Для аналізу природи мутацій, що індукуються генотоксикантами є розроблені модифікації *Comet assay* з використанням гангліїв головного мозку, клітин середньої кишки і гематоцитів *D. melanogaster*. Переза-Вега Р.І. та інш. (2016) адаптували метод ДНК-комет (*Comet assay*) для вияву природи мутацій в клітинах імагінальних дисків крил личинок *D. melanogaster*. У цьому тесті досліджуваною речовиною обробляють 72-годинні личинки III віку. Негативним контролем слугує дистильована вода, позитивним – водний розчин 5 мМ циклофосфаміду. Флакони зі зразками личинок культивують 24 год при 25 °С і відносній вологості 60–80% у темноті. Із імагінальних дисків крила личинок (не менше 20-ти особин у кожній групі), отримують суспензії окремих клітин, з яких екстрагують ДНК та проводять електрофорез. Електрофореграми фарбують етидід бромідом (англ. ethidium bromide) та досліджують їх під флуоресцентним мікроскопом (×40). Оцінка ДНК-комет здійснюється з використанням категорійного класифікатора пошкоджень, запропонованих А. Коллінзом (2004). Згідно з ним, кожному класу ДНК-комет присвоєно значення від 0 до 4, де 0 означає відсутність пошкоджень, а 4 – максимальні пошкодження⁶⁹.

Визначення рівня мутаційних процесів у природних популяціях *D. melanogaster*. Для оцінки біологічних ефектів поллютантів, ксенобіотиків та продуктів їх розпаду в антропогенно– та техногенно-навантажених екосистемах здійснюються дослідження рівня мутаційних процесів, частоти мутацій та їх фенотипових проявів у природних популяціях *D. melanogaster*. Основою таких досліджень є те, що рівень спонтанних мутацій в природних популяціях *D. melanogaster* є сталою величиною, а присутність в екосистемах певних чинників може призводити до появи неадаптивних мутацій⁷⁰. Для постановки досліджень, виловлюються особини *D. melanogaster* з природних популяцій методом приманок та здійснюються фенотипові обстеження відібраних особин. Із них відбирають по 30 самок, поміщають в окремі флакони із середовищем та аналізують фенотип їхніх інбредних нащадків упродовж п'яти поколінь. Водночас застосовуються методи обліку зчеплених зі статтю рецесивних (РЛМ) і домінантних летальних мутацій (ДЛМ), визначення частоти кросинговеру у локусі

⁶⁸Assessing genotoxicity of diuron on *Drosophila melanogaster* by the wing-spot test and the wing imaginal disk comet assay / R. Peraza-Vega et al. *Toxicology and Industrial Health*. 2016. Vol. 33. P. 1 – 11. URL: 10.1177/0748233716670536 (date of access: 20.11.2023).

⁶⁹Collins A. R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology*. 2004. Vol. 26, no 3. P. 249–261. URL: 10.1385/MB:26:3:249 (date of access: 20.11.2023).

⁷⁰Проценко О. В. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2006. Вип. 8. С. 49–53. URL: <http://www.utgis.org.ua/ua/publ-ua/factory-ua>.

yellow-cut X-хромосоми, статистичний метод аналізу результатів. Такий підхід дає змогу оцінити екологічний стан об'єкта довкілля, а також токсико-мутагенний рівень певної екосистеми за частотою мутацій та рівнем мутагенності⁷¹. Досліджуючи спонтанні мутаційні процеси у природних популяціях *D. melanogaster*, виділені з різних екосистем України І. А. Козерецька та інш. (2016) встановили збільшення спектру спонтанних мутацій у всіх досліджених популяціях порівняно з даними спостережень попередніх років. Прикладом морфологічної мутації, яка зустрічалася з високою частотою у досліджених популяціях *D. melanogaster*, була порушення розвитку другої поперечної жилки крила. На основі отриманих даних дослідники припустили: “про початок чергового “мутаційного спалаху” у природних популяціях *D. melanogaster* на території України”⁷².

Спосіб визначення показників плодючості *D. melanogaster*. Серед значної кількості запатентованих способів визначення токсичності й генотоксичності ксенобіотиків, є більш прості, економічніші та інформативніші методи, що не потребують спеціальних тесторних ліній *D. melanogaster*, особливих умов чи приладів. Один з них, ґрунтується на визначенні показників плодючості мух *D. melanogaster*, яких обробляють досліджуванним зразком⁷³. Даний спосіб рекомендований для визначення генетично обумовленого спонтанного рівня показників плодючості у різних ліній *D. melanogaster*, а також для короткострокової оцінки небезпечності ксенобіотиків та їх негативного впливу на адаптивні можливості еукаріотів. Зазначений спосіб передбачає схрещування самців з інтактними віргінними самками з подальшим дослідженням показників плодючості у їхніх нащадків на постембріональній стадії розвитку (стадії лялечки). Основними показниками плодючості дрозофіли на цій стадії розвитку є кількість лялечок та імаго. Різницю показників плодючості різних ліній *D. melanogaster* або наявність впливу ксенобіотиків на показники плодючості констатують при достовірних змінах показників (при $p < 0,05$). Однією з переваг даного способу є те, що не має потреби у

⁷¹Mutation processes in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *Hirundo rustica* from radiation-contaminated regions of Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *Cytol. Genet.* 2008. Vol. 42. P. 267–271. URL: <https://doi.org/10.3103/S0095452708040099> (date of access: 20.11.2023).

⁷²A high frequency of heritable changes in natural populations of *Drosophila melanogaster* in Ukraine/ I. A. Kozeretska et al. *Cytol. Genet.* 2016. Vol. 50, no 2. P. 106–109. URL: [10.3103/S0095452716020092](https://doi.org/10.3103/S0095452716020092)(date of access: 20.11.2023).

⁷³Спосіб визначення показників плодючості *Drosophila melanogaster* в умовах спонтанного та хімічно індукованого мутагенезу: пат. 76804 Україна: G01N 33/554 (2006.01); заявл. 06.08.2012; опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1. 6 с. URL: <http://uapatents.com/6-76804-sposib-viznachennya-pokaznikiv-plodyuchosti-drosophila-melanogaster-v-umovakh-spontanogo-ta-khimichno-indukovanogo-mutagenezu.html>

попередньому масовому розведенні мух *D. melanogaster*. У ньому, рекомендується схрещувати самців (10) із самками індивідуально, а не масово, що дає змогу проаналізувати геном кожного самця окремо. Аналіз показників плодючості здійснюється на стадії лялечок, а не на стадії яйця, що унеможлиблює появу суб'єктивних помилок при підрахунках значної кількості різних класів яєць як у ДЛМ-тесті. Дослідники заявляють, що застосування такого підходу дасть змогу підвищити економічність, експресність, інформативність та достовірність тестування, а також оцінити вплив негативних чинників різної природи на показники плодючості дрозофіли, визначити дозові залежності, дослідити безпечні концентрації лікарських препаратів. Припускається, що даний спосіб може сприяти широкому генетичному скринінгу, спрямованому на виявлення й усунення з оточуючого середовища чинників з генотоксичними властивостями.

ВИСНОВКИ

Для виявлення у об'єктах довкілля чинників різної природи з токсичними й генотоксичними властивостями розроблено різноманітні тест-системи за використання модельного генетичного об'єкту *D. melanogaster*. Завдяки всебічній вивченості його геному, фенотипу та онтогенезу, тест-системи за використання мух *D. melanogaster* дають змогу виявляти полютанти та ксенобіотики ембріотоксичної, мутагенної й рекомбіногенної дії. Вони є придатними для оцінки екологічного стану об'єктів довкілля (зокрема, поверхневих вод річок, джерел, колодязів, ґрунтів) та природних, антропогенно– чи техногенно-навантажених екосистем. Вони уможливлюють моніторинг генетичних ефектів біологічно активних чинників середовища, їх вплив на структуру генетичного апарату і можливий мутагенний ефект.

Для первинної оцінки екологічного стану об'єктів довкілля, а також для генетичного скринінгу в екосистемах полютантів з ембріотоксичними та мутагенними властивостями, доцільно застосувати класичний тест на домінуючі летальні мутації (ДЛМ-тест), або тест на визначення показників плодючості *D. melanogaster*. Останній тест придатний для визначення генетично обумовленого спонтанного рівня показників плодючості у різних ліній *D. melanogaster*, а також для короткострокової оцінки небезпечності ксенобіотиків та їх негативного впливу на адаптивні можливості еукаріотів.

Для виявлення у об'єктах довкілля полютантів з рекомбіногенною активністю доцільно застосувати наступні тести, які можуть бути проведені як окремо, так і як доповнення один до одного: зокрема, тест на визначення частоти рекомбінації у статевих хромосомах *D. melanogaster* на ділянці між генами *w* і *ct*, а також тест на визначення

частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки смужковидності очей (*Bar*).

Для виявлення у об'єктах довкілля та екосистемах полютантів з мутагенною активністю, а також чинників, які ушкоджують ДНК, доцільно застосувати криловий тест (Somatic Mutation and Recombination Test, SMART) у поєднанні з молекулярно-генетичним ДНК кометним тестом (*Commet-assay*).

Для оцінки біологічних ефектів полютантів та їх генетичного скринінгу в антропогенно– та техногенно-навантажених екосистемах доцільно застосовувати дослідження по визначенню плодючості, рівня мутаційних процесів, частоти мутацій і їх фенотипових проявів у природних популяціях *D. melanogaster*.

АНОТАЦІЯ

У роботі проаналізовано тест-системи на основі модельного генетичного об'єкту *Drosophila melanogaster*, які є придатними для оцінки екологічного стану об'єктів довкілля та екосистем. Описано методологічні аспекти постановки зазначених тест-систем, які здатні виявляти за реакцією тест-об'єкта полютанти з ембріотоксичними, мутагенними й рекомбіногенними властивостями. Обґрунтовано доцільність застосування класичного тесту на домінуючі летальні мутації та тесту на визначення показників плодючості *D. melanogaster* для первинної оцінки екологічного стану об'єктів довкілля та скринінгу в екосистемах полютантів з ембріотоксичними й мутагенними властивостями. Для виявлення полютантів з рекомбіногенною активністю доцільно застосувати тест на визначення частоти рекомбінації у гетеросомах *D. melanogaster* або тест на визначення частоти нерівного кросинговеру за мутаціями ознаки *Bar*. Для виявлення полютантів з мутагенною активністю та ДНК-ушкоджуючих агентів, доцільно застосувати Somatic Mutation and Recombination Test на клітинах крил *D. melanogaster* (зокрема, wing-spot test) у поєднанні з молекулярно-генетичним *Commet-assay*.

Обґрунтовано доцільність застосування досліджень по визначенню плодючості, рівня мутаційних процесів, частоти мутацій і їх фенотипових проявів у природних популяціях *D. melanogaster* для оцінки біологічних ефектів полютантів та їх генетичного скринінгу в антропогенно– та техногенно-навантажених екосистемах.

Література

1. Heavy Metal and Metalloid Pollution of Soil, Water and Foods in Bangladesh: A Critical Review / M. Islam et al. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018. Vol. 15, no. 12. P. 2825. URL: <https://doi.org/10.3390/ijerph15122825> (date of access: 10.11.2023).

2. Comparative assessment of microplastics in water and sediment of a large European river / C. Scherer et al. *Science of the Total Environment*. 2020. Vol. 738. P. 139866. URL: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139866> (date of access: 10.11.2023).

3. Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна* / Т.В. Мариненко та ін. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

4. Ніколаєва І., Ленко Г., Лободзінський О. Дослідження поточного стану хвостосховищ Донбасу щодо їхнього можливого аварійного впливу на водні об'єкти в умовах військових дій/ під ред. Міністерства енергетики та захисту довкілля та ОБСЄ. Хвостосховища Донбасу. Київ, 2020. 52 с. URL: <https://www.osce.org/files/f/documents/b/b/456847.pdf>.

5. Environmental Xenobiotics and Its Effects on Natural Ecosystem / A. Embrandiri et al. *Plant Responses to Xenobiotics*. Singapore, 2016. P. 1–18. URL: https://doi.org/10.1007/978-981-10-2860-1_1 (date of access: 10.11.2023).

6. Трахтенберг І. М., Левицький Є. В. Генотоксична дія потенційно небезпечних хімічних сполук. *Вісник НАН України*. 2016. № 7. 42–27. URL: [10.15407/visn2016.07.027](https://doi.org/10.15407/visn2016.07.027).

7. Klepach H., Holub N., Lupak O. Assessment of ecotoxicological state of technologically modified edaphotopes with waste of oil refinery with the Allium-test method. *Visnyk of Lviv University. Biological series*. 2021. No. 84. P. 84–93. URL: <https://doi.org/10.30970/vlubs.2021.84.08> (date of access: 10.11.2023).

8. Посудін Ю. І. Методи вимірювання параметрів навколишнього середовища: підручник. Київ: Світ, 2003. 285 с. URL: <http://www.ekmair.ukma.edu.ua/handle/123456789/1825>.

9. Ломницька Я. Ф., Чабан Н. Ф. Хімічні та фізико-хімічні методи аналізу в екологічних дослідженнях: навчально-методичний посібник. Львів: Видавничий центр ЛНУ ім. Івана Франка, 2009. 304 с. URL: <http://catalog.lounb.org.ua/bib/393349>.

10. Біотестування та фітоіндикація якості водного середовища урбанізованих територій / А. А. Алексеева та ін. *Екологія та ноосферологія*. 2019. 30(2). 101-105. URL: <https://doi.org/10.15421/031917>.

11. Крайнюкова А. М., Крайнюков А. М., Кривицька І. А. Використання методик біотестування для оцінювання екологічного стану поверхневих вод. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Екологія. 2021. № 24. С. 103–116. URL: <https://doi.org/10.26565/1992-4259-2021-24-09>.

12. Guide to short-term tests for detecting mutagenic and carcinogenic chemicals (1985). Prepared for the IPCS by International Commission Protection Against Environmental Mutagens and Carcinogens. Geneva, 1985. URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/38607/9241541911-corr-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y> (date of access: 12.11.2023).
13. Malachova K. Using Short-Term Mutagenicity Tests for the Evaluation of Genotoxicity of Contaminated Soils. *Journal of Soil Contamination*. 1999. Vol. 8, no. 6. P. 667–680. URL: <https://doi.org/10.1080/10588339991339531> (date of access: 12.11.2023).
14. Куцоконь Н. Рослинні тест-системи для визначення генотоксичності. *Вісник НАН України*. 2010. № 4. С. 48–52. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/27248/06-Kutsokon.pdf?sequence=1>.
15. Болтіна І. В. Використання культури лімфоцитів периферичної крові людини в токсикологічних дослідженнях. Актуальні проблеми транспортної медицини. 2010. № 4. С. 111-119. URL: <http://dspace.nbuv.gov.ua/bitstream/handle/123456789/23238/20-Boltina.pdf?sequence=1>.
16. Drosophotoxicology: An Emerging Research Area for Assessing Nanoparticles Interaction with Living Organisms / M. Chifiriuc et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016. Vol. 17, no. 2. P. 36. URL: <https://doi.org/10.3390/ijms17020036> (date of access: 12.11.2023).
17. Lindsley, D. L., Zimm, G. G. *The Genome of Drosophila melanogaster*. San Diego: Academic Press, Inc., 1992. P. 1133. URL: <https://flybase.org/reports/FBrf0066905.html> (date of access: 11.11.2023).
18. Jennings B. H. Drosophila – a versatile model in biology & medicine. *Materials Today*. 2011. Vol. 14, no. 5. P. 190–195. URL: [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(11\)70113-4](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(11)70113-4) (date of access: 12.12.2023).
19. Arias A. M. *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century. *Methods Mol. Biol.* 2008. Vol. 420. P. 1–25. URL: [10.1007/978-1-59745-583-1_1](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-583-1_1) (date of access: 11.11.2023).
20. Discovering signaling mechanisms governing metabolism and metabolic diseases with Drosophila / S. K. Kim et al. *Cell Metabolism*. 2021. Vol. 33, no. 7. P. 1279–1292. URL: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.05.018> (date of access: 15.11.2023).
21. *Drosophila melanogaster*: a model organism to study cancer: review / Z. Mirzoyan et al. *Frontiers in Genetics*. 2019. Vol. 10, P. 1–16. URL: [10.3389/fgene.2019.00051](https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00051) (date of access: 15.11.2023).
22. Developmental Toxicity Assays Using the Drosophila Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

23. Голуб Н. Я., Черник Я. І. Дослідження комплексного впливу рентгенівського опромінення та кофеїну на частоту мутування у *Drosophila melanogaster*. *Acta Carpathica*. 2015. Вип. 24. С. 159–165. URL: <http://journals.dspu.in.ua/index.php/actacarthica/issue/view/24/24>.
24. Pandey U. B., Nichols, C. D. Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery. *Pharmacological Rev.* 2011. Vol. 63, no. 2, P. 411–436. URL: 10.1124/pr.110.003293 (date of access: 15.11.2023).
25. A high frequency of heritable changes in natural populations of *Drosophila melanogaster* in Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *Cytol Genet.* 2016. Vol. 50, no. 2. P. 106–109. URL: 10.3103/S0095452716020092 (date of access: 16.11.2023).
26. Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen.* 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: 10.1016/j.mrgentox.2014.12.004 (date of access: 16.11.2023).
27. Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols / A. Collins et al. *Nature Protocols.* 2023. URL: <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00754-y> (date of access: 17.12.2023).
28. Ashburner M., Golic K., Hawley R. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005. 1370 p. URL: https://books.google.com.ua/books?id=S0ZtQgAACAAM&hl=uk&source=gbs_book_other_versions (date of access: 16.11.2023).
29. Stocker H. & Gallant P. Getting started: An overview on raising and handling *Drosophila*. *Methods in Molecular Biology*. 2008. Vol. 420. P. 27–44. URL: https://doi.org/10.1007/978-1-59745-583-1_2 (date of access: 16.11.2023).
30. Білоконь С.В. *Drosophila melanogaster* Mg як тест-об'єкт скринінгу ксенобіотиків на акарицидну активність. *Біологічний вісник МДПУ*. 2015. №1. С. 145–155. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/9762>.
31. Оцінка токсичності та генотоксичності 1-(4-Хлорбензил)-3-Хлоро-4-(трифторметил-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діона на тест системі *Drosophila melanogaster* mg. (*Diptera: Drosophilidae*) / О. В. Проценко та ін. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2017. Том 21. С. 68–70. URL: <https://doi.org/10.7124/FEEO.v21.809>.
32. The spectrum of spontaneous mutations in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *The Bulletin of Vavilov Society of Geneticists and Breeders of Ukraine*. 2011. Vol. 9, no 1. P. 17–21. URL: http://utgis.org.ua/images/pdf/visnyk/2011/V9_N1/Visnik-2011-t9-n1_004.pdf (date of access: 16.11.2023).

33. Mutation processes in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *Hirundo rustica* from radiation-contaminated regions of Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *Cytology and Genetics*. 2008. Vol. 42, no. 4. P. 267–271. URL: <https://doi.org/10.3103/s0095452708040099> (date of access: 16.11.2023).

34. Кунда-Пронь І. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* м. Дрогобича. *Актуальні питання гуманітарних наук*. 2014. № 8. С. 400–403. URL: https://dspu.edu.ua/sites/youngsc/AQGS/2014_8/ecology/400-403.pdf.

35. Явище “мутаційного спалаху” у природних популяціях *Drosophila melanogaster* України / І. А. Козерецька. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2013. Вип. 12. С. 127–129. URL: http://nbuv.gov.ua/UJRN/feeo_2013_12_32 (date of access: 17.11.2023).

36. Demir E., Demir F., Marcos R. (2022). *Drosophila* as a Suitable *in vivo* model in the safety assessment of nanomaterials. *Adv Exp Med Biol.*, 2022. Vol. 1357. P. 275-301. URL : [10.1007/978-3-030-88071-2_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-88071-2_12) (date of access: 17.11.2023).

37. Demir E. & Demir F. *Drosophila melanogaster* as a dynamic *in vivo* model organism reveals the hidden effects of interactions between microplastic/nanoplastic and heavy metals. *J. Appl. Toxicol.* 2023. Vol. 43, no 2. P. 212–219. URL : <https://doi.org/10.1002/jat.4353> (date of access: 18.11.2023).

38. Demir E. Mechanisms and biological impacts of graphene and multi-walled carbon nanotubes on *Drosophila melanogaster*: Oxidative stress, genotoxic damage, phenotypic variations, locomotor behavior, parasitoid resistance, and cellular immune response. *Journal of Applied Toxicology*, 2022. Vol. 42. P. 450–474. URL : <https://doi.org/10.1002/jat.4232> (date of access: 18.11.2023).

39. Guzmán-Rincón, J., Ramírez-Victoria P., Benitez L. Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila* Used for Biomonitoring of Environmental Pollutants / *Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental*. 2001. Vol 56. P. 221–237. URL: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-1305-6_13 (date of access: 18.11.2023).

40. Potential health impact of environmental micro- and nanoplastics pollution / X. Chang et al. *Journal of Applied Toxicology*. 2019. Vol. 40, no. 1. P. 4–15. URL: <https://doi.org/10.1002/jat.3915> (date of access: 18.11.2023).

41. Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: [10.1016/j.mrgentox.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.12.004) (date of access: 18.11.2023).

42. Genotoxic potency in *Drosophila melanogaster* of selected aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons as assayed in the DNA repair test / K. Fujikawa et al. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 1993. Vol. 290, no. 2. P. 175–182. URL: [https://doi.org/10.1016/0027-5107\(93\)90157-b](https://doi.org/10.1016/0027-5107(93)90157-b) (date of access: 19.11.2023).

43. Білоконь С.В., Алексеєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

44. Gaivão I., Ferreira J. & Sierra L. M. Recombination test (SMART) of *Drosophila melanogaster* for detecting antigenotoxic activity. *Genotoxicity and Mutagenicity – Mechanisms and Test Methods*. Intechopen, 2020. URL: 10.5772/intechopen.91630.

45. Голуб Н. Я., Черник Я. І. Мутації, індуковані рентгенівським опроміненням та деякими хімічними реагентами, що змінюють тривалість життя *Drosophila melanogaster*. *Цитологія і генетика*. 2008. Т. 42. № 1. С. 37–44. URL: <http://dspace.nbu.gov.ua/handle/123456789/8047>.

46. Білоконь С.В., Алексеєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

47. Budiyanı D. S., Moeller M. E., Thit A. Influence of copper treatment on bioaccumulation, survival, behavior, and fecundity in the fruit fly *Drosophila melanogaster*: Toxicity of copper oxide nanoparticles differ from dissolved copper. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2022. Vol. 92. P. 103852. URL: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2022.103852> (date of access: 19.11.2023).

48. Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

49. Carmona E., García-Rodríguez A., Marcos R. Genotoxicity of copper and nickel nanoparticles in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *J Toxicol*. 2018. Vol. 19. P. 7278036. URL: 10.1016/j.mrgentox.2014.12.004 (date of access: 18.11.2023).

50. Голуб Н. Я., Черник Я. І. Дослідження комплексного впливу рентгенівського опромінення та кофеїну на частоту мутування у *Drosophila melanogaster*. *Acta Carpathica*. 2015. Вип. 24. С. 159–165. URL: <http://journals.dspu.in.ua/index.php/actacarpathica/issue/view/24/24>.

51. Білоконь С.В., Алексеева Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

52. Hartwell L. H. et al. (2004). Reference D: *Drosophila melanogaster*: genetic portrait of the fruit fly. *Genetics: from Genes to Genomes*. McGraw-Hill, 2004. P. 813–838.

53. Ashburner M., Golic K., Hawley R. *Drosophila: A Laboratory Handbook*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2005. P. 37 – 101. URL: https://books.google.com.ua/books?id=S0ZtQgAACAAJ&hl=uk&source=gbs_book_other_versions.

54. Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

55. Дослідження опосередкованого впливу важких металів на генетичні процеси у *Drosophila melanogaster* / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Київ. національного університету імені Т. Шевченка*. 2005. Вип. 46. С. 29–31. URL: http://www.library.univ.kiev.ua/ukr/host/10.23.10.100/db/ftp/visnyk/biolog_45-46_2005.pdf.

56. Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.11.2023).

57. Генетична активність водних витяжок з ґрунтів Чорнобильської зони відчуження / Т. В. Мариненко та ін. *Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна*. Серія Біологія. 2008. Вип. 8. № 828. С. 35–41. URL: [http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8\(2008\)/pdf/35.pdf](http://seriesbiology.univer.kharkov.ua/ukr/8(2008)/pdf/35.pdf).

58. Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1. URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

59. Білоконь С.В., Алексеева Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

60. Developmental Toxicity Assays Using the *Drosophila* Model / M. D. Rand et al. *Current Protocols in Toxicology*. 2014. Vol. 59, no. 1.

URL: <https://doi.org/10.1002/0471140856.tx0112s59> (date of access: 15.12.2023).

61. Білоконь С.В., Алексеєва Т. Г. *Drosophila melanogaster* як тест-система *in vivo* для виявлення генотоксичної дії потенційно-небезпечних препаратів та речовин: методичні вказівки до розділу великого спеціального практикуму. Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2020. 32 с. URL: <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/29521>.

62. Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*/ M. Furlanetto et al. 2007. Vol. 48, no 1. P. 67–70. URL: 10.1002/em.20275 (date of access: 15.11.2023).

63. Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster* / U. Graf et al. *Environ Mutagen*. 1984. Vol. 6, no 2. P. 153-88. URL: 10.1002/em.2860060206 (date of access: 15.11.2023).

64. Genotoxic testing of titanium dioxide anatase nanoparticles using the wing-spot test and the comet assay in *Drosophila* / E. Carmona et al. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*. 2015. Vol. 15, no. 778. P. 12–21. URL: 10.1016/j.mrgentox.2014.12.004 (date of access: 16.11.2023).

65. Effect of Vanillin on Toxicant – Induced Lethality in the *Drosophila melanogaster* DNA Repair Test. *Environmental and Molecular Mutagenesis*/ M. Furlanetto et al. 2007. Vol. 48, no 1. P. 67–70. URL: 10.1002/em.20275 (date of access: 15.11.2023).

66. Genotoxic and oxidative stress potential of nanosized and bulk zinc oxide particles in *Drosophila melanogaster* / E. Carmona et al. *Toxicol and Health*. 2016. Vol. 32, no 12. P. 1987-2001. URL: 10.1177/0748233715599472 (date of access: 18.11.2023).

67. Single cell gel/comet assay: Guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing / R. R. Tice et al. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 2000. Vol. 35, no. 3. P. 206–221. URL: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-2280\(2000\)35:3%3C206::aid-em8%3E3.0.co;2-j](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-2280(2000)35:3%3C206::aid-em8%3E3.0.co;2-j) (date of access: 19.11.2023).

68. Assessing genotoxicity of diuron on *Drosophila melanogaster* by the wing-spot test and the wing imaginal disk comet assay / R. Peraza-Vega et al. *Toxicology and Industrial Health*. 2016. Vol. 33. P. 1 – 11. URL: 10.1177/0748233716670536 (date of access: 20.11.2023).

69. Collins A. R. The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology*. 2004. Vol. 26, no 3. P. 249–261. URL: 10.1385/MB:26:3:249 (date of access: 20.11.2023).

70. Проценко О. В. Мутаційні процеси в природних популяціях *Drosophila melanogaster* України. *Фактори експериментальної еволюції організмів*. 2006. Вип. 8. С. 49–53. URL: <http://www.utgis.org.ua/ua/publ-ua/factory-ua>.

71. Mutation processes in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *Hirundo rustica* from radiation-contaminated regions of Ukraine / I. A. Kozeretska et al. *Cytol. Genet.* 2008. Vol. 42. P. 267–271. URL: <https://doi.org/10.3103/S0095452708040099> (date of access: 20.11.2023).

72. A high frequency of heritable changes in natural populations of *Drosophila melanogaster* in Ukraine/ I. A. Kozeretska et al. *Cytol. Genet.* 2016. Vol. 50, no 2. P. 106–109. URL: 10.3103/S0095452716020092(date of access: 20.11.2023).

73. Спосіб визначення показників плодючості *Drosophila melanogaster* в умовах спонтанного та хімічно індукованого мутагенезу: пат. 76804 Україна : G01N 33/554 (2006.01); заявл. 06.08.2012; опубл. 10.01.2013, Бюл. № 1. 6 с. URL: <http://uapatents.com/6-76804-sposib-viznachennya-pokaznikiv-plodyuchosti-drosophila-melanogaster-v-umovakh-spontannogo-ta-khimichno-indukovanogo-mutagenezu.html>.

Information about the author:

Klepach Halyna Mykolaivna,

Candidate of Biological Sciences,

Associate Professor at the Department of Biology and Chemistry,

Drohobych Ivan Franko State Pedagogical University,

24, Ivan Franko Str., Drohobych, Lviv Region, 82100, Ukraine