

ВПЛИВ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТУ НА ШВИДКІСТЬ ЛЯЛЬКУВАННЯ, ІНТЕНСИВНІСТЬ СПОЖИВАННЯ ЇЖІ ТА ВМІСТ ДЕЯКИХ МЕТАБОЛІТІВ У ЛИЧИНОК *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Г. Шмігель*, М. Лирик, М. Байляк

ДВНЗ «Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника»
вул. Галицька, 201, Івано-Франківськ 76025, Україна
e-mail: shmihel@ukr.net

Досліджено вплив натрієвої солі альфа-кетоглутарату (АКГ) на швидкість лялькування плодової мушки *D. melanogaster* лінії w^{1118} та вміст деяких метаболітів у тілі личинок третьої стадії розвитку. Показано, що додавання до середовища культивування АКГ за концентрацій 0,01–10,0 мМ не впливає на швидкість лялькування, масу личинок плодової мушки та інтенсивність споживання ними їжі. За концентрації 100 мМ АКГ у середовищі спостерігалось зниження даних показників. Інтенсивність харчування дорослих особин плодової мушки збільшувалась при додаванні до середовища АКГ. У тілі личинок, вирощених на АКГ, вміст водорозчинного білка не відрізнявся, а вміст глюкози і триацилгліцеридів був нижчим, ніж у контролі. Обговорюються можливі механізми впливу АКГ на метаболізм личинок.

Ключові слова: альфа-кетоглутарат, *Drosophila melanogaster*, швидкість лялькування, інтенсивність споживання їжі, вміст глюкози, триацилгліцериди.

Альфа-кетоглутарат (АКГ) – важливий інтермедіат циклу Кребса, який бере участь у забезпеченні клітин енергією, а також у метаболізмі амінокислот і білків. Експериментально доведено, що додавання АКГ до харчового раціону тварин може покращувати білковий обмін і стимулювати енергетичний обмін в організмі [6, 9]. АКГ як переносник аміногруп є попередником глютамінової кислоти, глютаміну [10] та інших амінокислот, які беруть участь у синтезі білка, а також у регуляції рівня глюкози в крові. У медицині та дієтології АКГ використовується для стимуляції обмінних процесів і відновлення при м'язових ушкодженнях [6]. Сьогодні АКГ активно вивчається у руслі покращення загального функціонального стану організму. Однак детальні механізми дії АКГ як харчової добавки досі залишаються нез'ясованими. Вивчення впливу харчового раціону, різних харчових добавок і біологічно активних сполук проводять з використанням цілого спектра модельних організмів, а також на клітинному рівні. В останні роки у подібних дослідженнях інтенсивно почала використовуватися плодова мушка *Drosophila melanogaster*, яка раніше набула величезної популярності як зручний об'єкт генетичних досліджень [5, 12, 13]. Як модельний об'єкт плодова мушка являє собою складний багатоклітинний організм, у якому багато аспектів розвитку, метаболізму та поведінки подібні до людських [1, 2]. Зокрема, цікаві результати отримані при використанні *D. melanogaster* у вивченні впливу різних дієт на вуглеводний і ліпідний обмін, накопичення запасних речовин, інтенсивність вільнорадикального окислення, швидкість і тривалість життя організму [4, 12, 13]. З огляду на це, метою даної роботи було дослідити вплив АКГ різних концентрацій на швидкість розвитку та вміст деяких метаболітів у тілі личинок плодової мушки *D. melanogaster*.

Матеріали та методи

Умови вирощування базових культур *D. melanogaster*. У роботі використовували плодову мушку *D. melanogaster* лінії w^{1118} , яка була люб'язно надана з колекції Блу-

мінгстонського Стокового Центру університету Індіани (США). Батьківську культуру мух вирощували на мелясному середовищі [11], яке містило (на 100 мл): 7,5 мл меляси; 5 г пресованих пекарських дріжджів; 6,1 г кукурудзяної крупи; 1,2 г агару; 1 мл 18% ніпагіну. Ніпагін додавали для інгібування росту цвілевих грибів.

Умови вирощування *D. melanogaster* на експериментальних середовищах. Для експериментальних культур мухи відкладали яйця на дріжджово-сахарозному середовищі (5 г пекарських пресованих дріжджів, 5 г сахарози, 2 г агару) протягом 6 год. Опісля яйця відмивали від середовищ та в однаковій кількості вносили у банки з експериментальним середовищем (по 100–200 особин на банку). Експериментальні культури *D. melanogaster* вирощували на дріжджово-сахарозному середовищі, яке містило (на 100 мл): 10 г пекарських пресованих дріжджів, 10 г сахарози, 1 г агару, 1 мл 18% ніпагіну та різні концентрації розчину натрієвої солі альфа-кетоглутарату (мМ). Культивування проводили при 25°C, постійній вологості (60%) та світловому режимі день:ніч – 16:8. Через 72 год після закладки яєць на розвиток з'являлися личинки III стадії, яких використовували для біохімічних аналізів. По досягненню мухами дводенного віку їх пересажували на свіже середовище або використовували для експериментів.

Вивчення впливу АКГ на швидкість лялькування *D. melanogaster*. Для визначення швидкості лялькування *D. melanogaster* на експериментальних середовищах спостерігали за розвитком яєць, а саме, починаючи з п'ятого дня, щодня підраховували кількість утворених лялечок у кожній банці. Підрахунок вели до того часу, поки всі личинки не залялькувалися. Кількість залялькованих особин виражали у відсотках. За 100% приймали кількість залялькованих особин на 10-ту добу розвитку.

Визначення маси особин та інтенсивності споживання їжі плодовою мушкою. Масу однієї личинки визначали як середнє арифметичне десяти, зважених на торсійній вазі особин. Визначення кількості спожитої їжі проводили з використанням барвника Діамантового синього (FD&C Blue N1). Даний метод є непрямим методом визначення кількості споживання їжі. Він базується на визначенні кількості спожитого разом із живильним середовищем барвника Діамантового синього, максимум оптичного поглинання якого спостерігають при 629 нм [14]. 15 личинок 3-ї стадії розвитку поміщали на чашки Петрі з експериментальним середовищем, яке містило також барвник у кількості 0,5%. Для контролю готували середовище без барвника. Личинки залишали на даному середовищі на 24 год при 25°C. Після цього личинки промивали дистильованою водою, висушували, зважували та гомогенізували у співвідношенні 1:100 (1 мг: 100 мкл) в охолодженому 50 мМ калій-фосфатному буфері (КФБ) (рН 7,0). Гомогенат переносили в епендорфи і центрифугували 10 хв при 13 тис. об./хв. Після центрифугування відбирали 750 мкл супернатанту в чисті пробірки і додавали 750 мкл 50 мМ КФБ. Визначали оптичне поглинання зразків при 629 нм проти бланку поглинання супернатантів із личинок, які споживали середовище без барвника. Паралельно визначали оптичне поглинання при 629 нм стандартних розчинів барвника з точно відомою концентрацією, необхідних для побудови калібрувальної кривої (вихідний розчин барвника концентрацією 0,04 мг/мл).

Тест на вибір їжі дорослими особинами плодової мушки. Для експерименту готували чашки Петрі зі середовищем, яке містило тільки 1% агар. Після застигання агару чашку Петрі ділили на 4 рівні сектори і в кожному секторі робили лунки на однаковій відстані від центру чашки, в які вносили по 200 мкл експериментального неагаризованого середовища з різними концентраціями АКГ (рис. 1). Для проведення тесту 2-денних мух з базових культур утримували за умов голодування протягом 3 год. Після голодування мух розділяли за статями за допомогою анестезування CO₂ і у кількості 40 особин однієї статі

поміщали у центрі чашки Петрі. Мухам було надано 5 хв для отямлення після дії вуглекислоти. Після цього протягом 15 хв фіксували кількість візитів мух до різних лунок [8].

Визначення вмісту водорозчинного білка. Концентрацію білка у пробах визначали методом Бредфорд [3]. Концентрацію білка в дослідних пробах розраховували за допомогою калібрувальної кривої, побудованої зі стандартним розчином білка.

Визначення вмісту глюкози у тілі личинок. Вміст глюкози визначали глюкозооксидазним методом з використанням Liquick Cor-Glucose diagnostic kit (Cormay, Poland). Принцип визначення вільної глюкози полягає в окисненні глюкози глюкозооксидазою з утворенням еквівалентної кількості пероксиду водню. Пероксид водню, у свою чергу, є субстратом для пероксидази, яка його відновлює шляхом одночасного окиснення інших субстратів з утворенням сполуки рожевого кольору. Інтенсивність забарвлення окисленого субстрату колориметрують при 500 нм і вона пропорційна концентрації глюкози у препараті. До 10 мкл супернатанту, попередньо витриманого протягом 10 хв на киплячій водяній бані, додавали 180 мкл води та 500 мкл робочого розчину, який містив усі необхідні ферменти. Інкубували протягом 15 хв при 28°C на шейкері (250 об./хв). Після інкубування у проби вносили по 1 мл дистильованої води та визначали оптичне поглинання проб при 500 нм. Для побудови калібрувальної кривої використовували стандартний розчин глюкози з концентрацією 0,2 мг/мл. Обчислювали вміст глюкози з використанням коефіцієнта лінійної регресії, отриманого від поглинання зразків калібрувальної кривої.

Визначення вмісту триацилгліцеридів у тілі личинок (ТАГ). Вміст ТАГ визначали з використанням діагностичного набору Liquic Cor-TG (Cormay, Poland). Личинки гомогенізували у PBST буфері (1 мг : 50 мкл), що містив 0,05% тритону X-100 (рН 7,4). Отриманий гомогенат витримували на киплячій водяній бані протягом 10 хв для інактивації власних ферментів, що можуть розчеплювати ТАГ. Опісля охолоджували та центрифугували при 13,2 тис. об./хв. Отримані супернатанти використовували для визначення вмісту ТАГ. Інкубаційна суміш містила 40 мкл супернатанту, 60 мкл води та 300 мкл приготовленого реакційного робочого розчину (два реагенти діагностичного набору (1-TG і 2-TG) змішували у співвідношенні 4:1). Інкубування проводили на шейкері при 28°C протягом 20 хв. Паралельно готували проби зі стандарту ТАГ для калібрувальної кривої. Після інкубації до кожної проби додавали 1000 мкл води та визначали оптичне поглинання проб при 540 нм.

Статистична обробка даних. Статистичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми „Mupova”. За статистичні показники брали середнє арифметичне \bar{X} (M) та похибку середнього арифметичного – $S\bar{X}$, або m. Порівняння середніх арифметичних і визначення достовірної різниці між ними проводили за допомогою критерію Стьюдента.

Результати і їхнє обговорення

Вплив АКГ на швидкість лялькування особин плодової мушки

Багатьма дослідженнями показано, що більшість речовин, будучи корисними при низьких концентраціях, можуть стати токсичними при високих концентраціях [4, 11]. Щоб перевірити, чи виявляє екзогенний АКГ токсичну дію на плодovu мушку *D. melanogaster*, досліджували розвиток яєць плодової мушки на середовищі, яке містило різні концентрації АКГ. Швидкість розвитку оцінювали за часом появи лялечок. Личинки дрозофіл припиняють харчуватись і починають заляльковуватись у визначений час після вилуплення, тому зміни у часі заляльковування можуть слугувати маркером швидкості розвитку мух [11, 15].

На рис. 1 показано часову динаміку лялькування личинок, що споживали їжу з різними концентраціями АКГ. Як бачимо, додавання до середовища АКГ у концентраціях

0,1–10,0 мМ не впливало на швидкість заляльковування мух, лише при 100 мМ АКГ спостерігалось сповільнення заляльковування плодової мушки. АКГ за концентрації 100 мМ затримував лялькування особин, але не впливав на відсоток вилуплювання та відсоток появи дорослих мух. Водночас дорослі мухи, самці та самки, вирощені на 100 мМ АКГ, мали менші розміри та масу тіла.

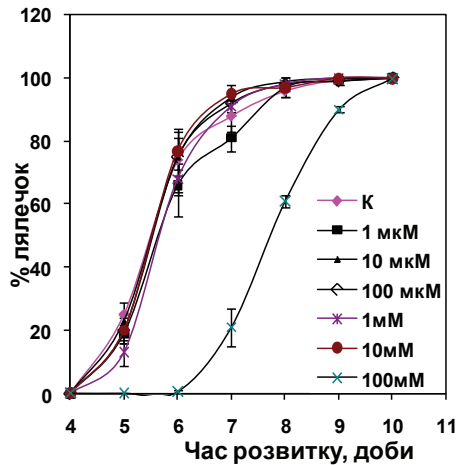


Рис. 1. Швидкість заляльковування особин *D. melanogaster w¹¹¹⁸* за розвитку на дріжджово-сахарозному середовищі, яке містило різні концентрації АКГ. n=6 (по 200 яєць у кожному повторі).

Вплив АКГ на масу тіла й інтенсивність спожитої їжі личинками III стадії

Личинка, яка утворюється з яйця приблизно через добу, переживає три личинкові стадії і дві линьки: личинка I стадії (1 линька) → линька II стадії (2 линька) → личинка III стадії (3–4 доба), яка готова до лялькування і має повністю сформовані імагінальні диски. У наступній стадії всі личинкові органи руйнуються (крім нервової системи та статевих залоз) і замінюються імагінальними органами [1, 2]. Личинки III стадії безпосередньо передують утворенню лялечок, тому саме їх обрано для досліджень. Вирощування на середовищі з АКГ не впливало на масу личинок *D. melanogaster* (табл. 1), окрім на середовищі з 100 мМ АКГ маса личинок була на 15% нижчою, ніж у личинок контрольної групи.

Таблиця 1

Маса тіла (мкг) та кількість спожитої їжі (мкг/личинку) у личинок III стадії *D. melanogaster* при вирощуванні на дріжджово-м'ясному середовищі з різними концентраціями АКГ, n=6 (по 30 особин у кожному повторі)

	Концентрація АКГ					
	0 мкМ	10 мкМ	100 мкМ	1 мМ	10 мМ	100 мМ
Маса личинки	1303±43	1269±106	1407±79	1388±26	1308±83	1101±67*
Кількість їжі	279±22	317±28	317±45	280±13	303±30	227±21*

Примітка. *Значення достовірно відрізняється від відповідних контрольних значень з $P < 0,05$.

Істотна різниця у споживанні їжі спостерігалась також тільки за концентрації АКГ у середовищі – 100 мМ. Мухи на 20% менше споживали середовища з 100 мМ АКГ, порівняно з контролем. Таким чином, токсичність АКГ для плодової мушки проявляється лише

за його дуже високих концентрацій.

У подальших експериментах мушки вирощували лише на середовищі, у яке вносили концентрації АКГ в діапазоні до 10 мМ. Дані концентрації АКГ не виявляли токсичності для мушок, тобто не впливали на розвиток особин і масу личинок.

Вплив АКГ різної концентрації на вибір їжі дводенними дорослими особинами *D. melanogaster*

Споживання їжі має велике значення для життєдіяльності організмів. Вважається, що в основі вибору їжі тваринами лежить їх природна (генетично запрограмована) здатність до цього, а також бажання отримати максимум їжі при мінімальних затратах енергії. Добре відомо, що різні фактори змінюють харчову поведінку комах. У зв'язку з подібністю в організації та функціонуванні хемосенсорних систем хребетних і безхребетних організмів плодова мушка є дуже корисною моделлю для дослідження генетичних основ харчової поведінки. Комаха використовує нюхові, смакові, а також фото- і механорецептори, щоб знайти їжу, свою пару і відповідні умови для їхнього потомства. Проте механізми, залучені до сприйняття і надання переваги певному типові їжі, залишаються погано вивченими, особливо у комах. Також цікавою є різниця між вибором їжі у особин різної статі [8]. У зв'язку з наявністю у плодової мушки смакових і нюхових рецепторів нам цікаво було дослідити, чи буде впливати додавання АКГ до живильного середовища на харчову поведінку дорослих особин плодової мушки.

З отриманих нами результатів (рис. 2) видно, що самки надають перевагу їжі, де кінцева концентрація АКГ становить 0,1 мМ АКГ, самці ж обирають концентрацію АКГ 100 мМ. Це може бути пов'язано з природною здатністю самок вести менш рухливий спосіб життя, запасати жири, що необхідно для збереження потомства. Самці ж для більшої рухливості потребують значного запасу білків, який буде підвищуватися у зв'язку з метаболічним впливом АКГ. Таким чином, додавання АКГ до живильного середовища впливає на інтенсивність харчування дорослими особинами плодової мушки, чого не спостерігалось для особин личинкової стадії (інтенсивність споживання їжі у личинок на контрольному середовищі та середовищах з АКГ була подібною (див. табл. 1). Можливо, це пов'язано не лише зі смаковими уподобаннями плодової мушки, а й також із запахом їжі. Відомо, що дорослі мухи здатні відчувати і знаходити їжу за запахом [7, 8]. Водночас розбіжності між личинками та дорослими особинами можуть бути пов'язані з різними умовами експерименту для цих особин.

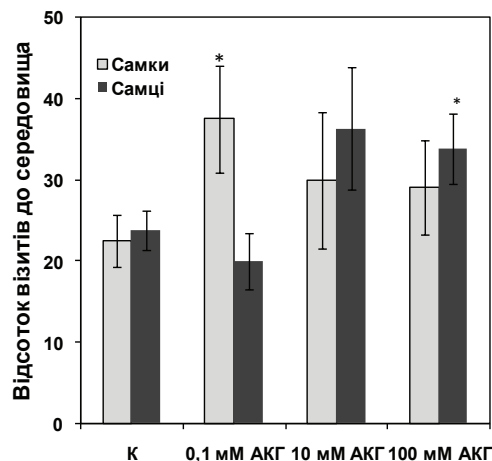


Рис. 2. Вибір їжі дводенними особинами *D. melanogaster* w^{1118} , $n=4$ (по 40 особин у кожному повторі),

n=4–5. *Значення достовірно відрізняється від відповідного контрольного значення з $P < 0,1$.

Вплив АКГ на вміст деяких метаболітів у тілі личинок III стадії *D. melanogaster*

Оскільки АКГ може впливати на вміст деяких метаболітів у тілі плодової мушки *D. melanogaster*, зокрема на вміст білка, глюкози і триацилгліцеридів, то нами було досліджено зміни названих вище метаболітів у тілі личинок третьої стадії розвитку, які споживали середовище з АКГ.

На рис. 3, А представлено вміст водорозчинного білка в тілі личинок третьої стадії розвитку. Як бачимо, вирощування на середовищі з додаванням АКГ різних концентрацій не впливало на вміст білка в тілі личинок. Водночас спостерігалися зміни у вмісті глюкози. Як видно з рис. 3, Б, вміст глюкози у тілі личинок третьої стадії розвитку знижувався при розвитку на середовищі з різними концентраціями АКГ. Так, личинки, які розвивались на середовищі з 5 та 10 мМ АКГ, мали приблизно на 30% менший вміст глюкози, ніж контрольні особини.

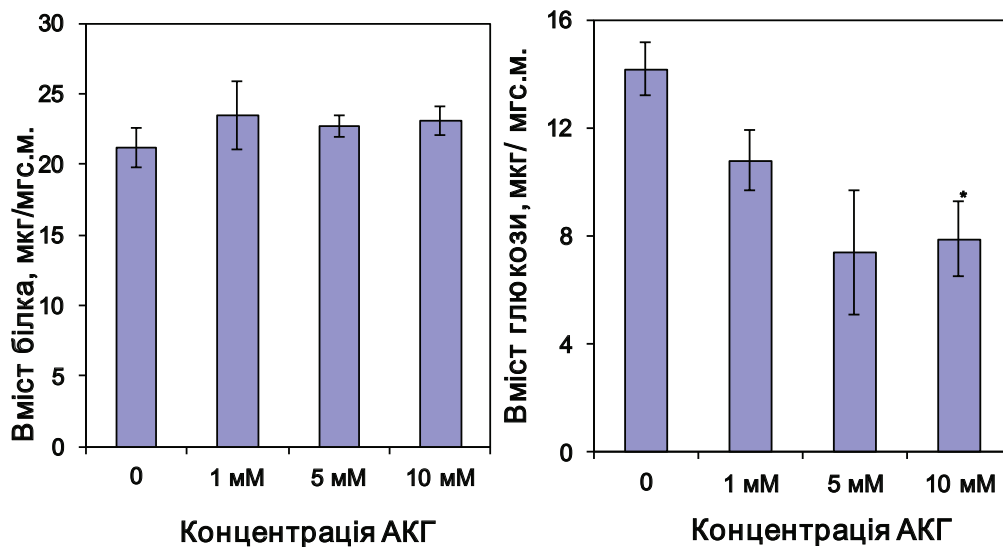


Рис. 3. Вміст водорозчинного білка (А) та вільної глюкози (Б) у тілі личинок третьої стадії розвитку *D. melanogaster w¹¹¹⁸*, які розвивались на дріжджово-сахарозному середовищі, що містило різні концентрації АКГ, n=5–7. *Значення достовірно відрізняється від відповідних контрольних значень з $P < 0,05$.

Вміст триацилгліцеридів (ТАГ) у тілі личинок, які розвивалися на середовищі з додаванням 1–5 мМ АКГ, не відрізнявся від такого у особин на контрольному середовищі (без АКГ) (дані не представлено). Проте личинки, вирощені на середовищі з 10 мМ АКГ, мали у 1,4 разу нижчий вміст ТАГ, ніж контрольні особини (рис. 4).

Отримані результати свідчать про те, що екзогенно спожитий АКГ спричиняє метаболічні зміни у личинок плодової мушки. В будь-якому аеробному організмі АКГ ендogenно утворюється в циклі Кребса, а також при дезамінуванні/переамінуванні глутамінової кислоти. Тому можна припустити, що екзогенний АКГ, спожитий личинками, включається, насамперед, у цикл Кребса. Це, у свою чергу, може призвести до інтенсифікації роботи циклу Кребса, оскільки, як відомо, у личинок метаболічні процеси відбуваються уповільнено, порівняно з дорослими особинами [1, 2]. Саме посиленням роботи ЦТК можна пояснити зниження вмісту вільної глюкози і ТАГ у тілі личинок.

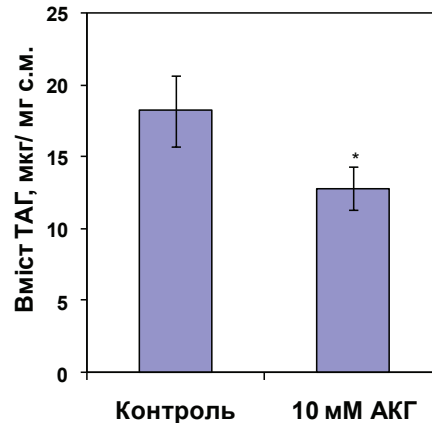


Рис. 4. Концентрація триацилгліцеридів у тілі личинок плодової мушки *D. melanogaster* w^{1118} , що розвивались на дріжджово-сахарозному середовищі з 10 мМ АКГ. *Значення достовірно відрізняється від відповідних контрольних значень з $P < 0,05$, $n=6$.

ТАГ накопичуються у меншій кількості, оскільки попередник жирних кислот – ацетил-КоА може перенаправлятися у цикл Кребса. Цикл Кребса постачає відновні еквіваленти у формі НАДН⁺+Н та ФАДН₂ в ЕТЛ мітохондрій, тому його інтенсифікація може покращувати енергозабезпечення клітин і цілого організму. Енергія у формі АТФ може використовуватися для стимуляції рухової активності личинок, а також для збільшення біосинтезу білків м'язової тканини [6]. Ми не отримали змін у вмісті білка в тілі личинок, проте ми визначали тільки водорозчинний білок, тому наші результати не можуть повністю показати, чи відбуваються кількісні зміни у вмісті загального білка в тілі. Згідно з літературними даними, АКГ може стимулювати утворення амінокислот, а відповідно – і синтез білка [6, 10, 15]. Посилення синтезу білка, зокрема, було показано на модельних тваринах (щурах і свинях [6, 9]). Тому припускаємо, що екзогенно спожитий АКГ може змінювати метаболізм личинок плодової мушки у бік посилення енергопродукції для забезпечення синтезу необхідних білків, при цьому синтез жирів сповільнюється.

Таким чином, додавання до середовища культивування натрієвої солі АКГ у концентраціях 0,01–10 мМ не впливає на швидкість розвитку лялечок і масу личинок *D. melanogaster* лінії w^{1118} . Проте АКГ модифікує перебіг метаболічних процесів в організмі личинок у напрямі зниження концентрації вільної глюкози в тілі та зменшення синтезу запасних триацилгліцеридів. Дані метаболічні зміни можуть бути передумовою відмінностей у метаболізмі дорослих особин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Arias A. M. *Drosophila melanogaster* and the development of biology in the 20th century // Methods Mol. Biol. 2008. Vol. 420. P. 1–25.
2. Beckingham K. M., Armstrong J. D., Texada M. J. et al. *Drosophila melanogaster* – the model organism of choice for the complex biology of multi-cellular organisms // Gravit Space Biol Bull. 2005. Vol. 18. N 2. P. 17–29.
3. Bradford M. M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding // Anal. Biochem. 1976. Vol. 72. P. 248–254.

4. *Gospodaryov D. V., Yurkevych I. S., Jafari M. et al.* Lifespan extension and delay of age-related functional decline caused by *Rhodiola rosea* depends on dietary macronutrient balance // *Longevity & Healthspan*. 2013. P. 2–5.
5. *Guru Prasad B. R., Hegde S. N.* Use of *Drosophila* as a model organism in medicine // *J. Medicine Medical Sci*. 2010. Vol. 1. N 12. P. 589–593.
6. *Harrison A. P., Pierzynowski S. G.* Biological effects of 2-oxoglutarate with particular emphasis on the regulation of protein, mineral and lipid absorption/metabolism, muscle performance, kidney function, bone formation and cancerogenesis, all viewed from a healthy ageing perspective state of the art-review article // *J. Physiol. Pharmacol*. 2008. Vol. 59 (Suppl. 1). P. 91–106.
7. *Ihara S., Yoshikawa K., Touhara K.* Chemosensory signals and their receptors in the olfactory neural system // *Neuroscience*. Vol. 254. P. 45–60.
8. *Jacob J.* A study on food preference in *Drosophila* // *The Scientia Review*. 2009. e 234.
9. *Junghans P., Derno M., Pierzynowski S. et al.* Intraduodenal infusion of alpha-ketoglutarate decreases whole body energy expenditure in growing pigs // *Clin Nutr*. 2006. Vol. 25. N 3. P. 489–496.
10. *Kang Y., Yulong Y., Xilong L. et al.* Alpha-ketoglutarate inhibits glutamine degradation and enhances protein synthesis in intestinal porcine epithelial cells // *Amino Acids*. 2012. Vol. 42. N 6. P. 2491.
11. *Lozinsky O., Lushchak O., Storey J. et al.* Sodium nitroprusside toxicity in *Drosophila melanogaster*: delayed pupation, reduced adult emergence, and induced oxidative/nitrosative stress in eclosed flies // *Arch. Insect. Biochem. Physiol*. 2012. Vol. 80. P. 166–185.
12. *Lushchak O. V., Gospodaryov D. V., Rovenko B. M. et al.* Balance between macronutrients affects life span and functional senescence in fruit fly *Drosophila melanogaster* // *J. Gerontol*. 2012. Vol. 67. N 2. P. 118–125.
13. *Lushchak O. V., Gospodaryov D. V., Rovenko B. M. et al.* Specific dietary carbohydrates differentially influence the life span and fecundity of *Drosophila melanogaster* // *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2014. Vol. 69. N 1. P. 3–12.
14. *Scorupa D., Dervisefendic A., Zwiener J. et al.* Dietary composition specifies consumption, obesity, and lifespan in *Drosophila melanogaster* // *Aging Cell*. 2008. Vol. 7. P. 478–490.
15. *Zinke I., Kirchner C., Chao L. C. et al.* Suppression of food intake and growth by amino acids in *Drosophila*: the role of pumpless, a fat body expressed gene with homology to vertebrate glycine cleavage system // *Development*. 1999. Vol. 126. N 23. P. 5275–5284.

Стаття: надійшла до редакції 24.01.14

доопрацьована 24.03.14

прийнята до друку 12.05.14

**EFFECT OF ALPHA-KETOGLUTARATE ON PUPATION,
FEEDING INTENSITY AND LEVELS OF SOME METABOLITES IN LARVAE
OF *DROSOPHILA MELANOGASTER***

H. Shmihel, M. Lylyk, M. Bayliak

*Vassyl Stefanyk Precarpathian National University
201, Halytska St., Ivano-Frankivsk 76025, Ukraine
e-mail: shmihel@ukr.net*

The effect of the sodium salt of alpha-ketoglutarate (AKG) on pupation of *D. melanogaster* W¹¹¹⁸ and levels of some metabolites in third-instar larvae was investigated. It was shown that the supplementation of culture medium with AKG at concentrations of 0.1–10.0 mM did not affect the rate of development, weight of larvae, and intensity of feeding of fruit fly. The intensity of feeding of adult fruit flies increased in AKG-supplemented medium compared to control. However, these indices decreased upon an AKG concentration of 100 mM in the medium. The significant difference in water-soluble protein content was not found, but levels of glucose and triacylglycerols decreased in the body of AKG-fed larvae compared to control group. The possible mechanisms of AKG action on the metabolism of larvae are discussed.

Keywords: alpha-ketoglutarate, *Drosophila melanogaster*, rate of pupation, intensity of feeding, content of glucose, triacylglycerols.

**ВЛИЯНИЕ АЛЬФА-КЕТОГЛУТАРАТА НА СКОРОСТЬ ОКУКЛИВАНИЯ,
ИНТЕНСИВНОСТЬ ПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩИ И СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ
МЕТАБОЛИТОВ В ЛИЧИНКАХ *DROSOPHILA MELANOGASTER***

Г. Шмигель, М. Лылык, М. Байляк

*ДВНЗ «Прикарпатський національний університет
імені Василя Стефаника»
ул. Галицька, 201, Івано-Франківськ 76025, Україна
e-mail: shmihel@ukr.net*

Исследовано влияние натриевой соли альфа-кетоглутарата (АКГ) на скорость формирования куколки плодовой мушки *D. melanogaster* линии W¹¹¹⁸ и содержание некоторых метаболитов в теле личинок третьей стадии развития. Показано, что добавление к среде культивирования АКГ в концентрациях 0,01–10,0 мМ не влияет на скорость окукливания, массу личинок плодовой мушки, интенсивность потребления ими пищи. При концентрации 100 мМ АКГ в среде наблюдалось снижение данных показателей. Интенсивность питания взрослых особей плодовой мушки увеличивалась при добавлении к среде АКГ. В теле личинок, выращенных на АКГ, содержание водорастворимого белка не отличалось, а содержание глюкозы и триацилглицеридов было ниже, чем в контроле. Обсуждаются возможные механизмы влияния АКГ на метаболизм личинок.

Ключевые слова: альфа-кетоглутарат, *Drosophila melanogaster*, скорость окукливания, интенсивность потребления пищи, содержание глюкозы, триацилглицериды.