

[https://doi.org/10.18524/2077-1746.2025.1\(56\).337318](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2025.1(56).337318)

УДК 595.773.4:591.3

С. В. Білоконь, к.б.н., доцент; <https://orcid.org/0000-0003-3375-1989>

Т. Г. Алексєєва, к.б.н., доцент; <https://orcid.org/0000-0002-1308-7673>

В. О. Сачалко, магістр

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
кафедра молекулярної біології, біохімії та генетики, вул. Змієнка Всеволода,
2, м. Одеса, 65082, Україна, e-mail: s.v.belokon@onu.edu.ua

ОНТОГЕНЕЗ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЯК МІШЕНЬ НІКОТИНОВОЇ ТОКСИЧНОСТІ. ПОВІДОМЛЕННЯ І

У роботі досліджено вплив нікобустера для електронних сигарет на розвиток *Drosophila melanogaster* при пероральному введенні. Показано, що нікотин зумовлює дозозалежну затримку метаморфозу, зниження виживаності та плодючості. Водночас виявлено підвищення ступеня політенізації ядер клітин слинних залоз личинок, що може свідчити про активацію компенсаторних механізмів у відповідь на токсичний стрес. Отримані результати вказують на личинку як критичну мішень дії нікотину та підкреслюють мультифакторний характер його впливу на розвиток *D. melanogaster*

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, нікобустер, нікотин, розвиток, політенні хромосоми, плодючість, фітнес, токсичний стрес

Вступ

Зловживання нікотинном залишається однією з найгостріших глобальних проблем охорони здоров'я. Незважаючи на добре відомі ризики куріння тютюну, чимало жінок продовжують вживати нікотин під час вагітності – чи то традиційно, чи за допомогою електронних сигарет та замісної нікотинової терапії [62; 90]. Окремі дослідження на гризунах показали, що пренатальний вплив нікотину призводить до низької маси тіла при народженні, затримки розвитку й порушень холінергічної та дофамінергічної систем [63; 79].

Моделні безхребетні – *Caenorhabditis elegans* і *Drosophila melanogaster* – дають змогу за допомогою швидких та економних експериментів вивчити ключові молекулярні й поведінкові ефекти нейроактивних речовин, зокрема нікотину [29; 40]. Особливу цінність становить *D. melanogaster*, оскільки приблизно 65–75% людських генів, що асоціюються з патологічними станами, мають у неї функціональні гомологи [14; 93], що робить її цінною моделлю для виявлення генетичних механізмів розвитку нікотинової токсичності [40; 73, 89].

Ранні дослідження на плодових мушках зосереджувалися переважно на інактивації ацетилхолінових рецепторів та інсектицидній дії нікотину [8]. Лише останніми роками увага перемістилася на довгострокові ефекти: N. A. Velazquez-Ulloa зі співавторами (2017) продемонстрували затримку роз-

витку й підвищену смертність при хронічній експозиції нікотину (включно з моделлю «від яйця до 3–4-денного імаго») [89]; М. Morris зі співавторами (2018) – збільшення часу розвитку завдяки активації генів стресової відповіді [56]; S. Rimal й Y. Lee, (2019) – участь смакових хеморецепторів у сприйнятті нікотину [68].

Нікотинові ацетилхолінові рецептори (nAChR) є основною мішенню нікотину в організмі *Drosophila melanogaster*. Із десяти відповідних генів найбільшу гомологію до хребетних демонструє ген *Da7*, активний у центральній нервовій системі на всіх стадіях розвитку, починаючи з ембріональної [13; 15; 21; 26; 32; 33]. Це дозволяє припустити його ключову роль у нейротоксичних ефектах нікотину включно з впливом на метаморфоз та дофамінергічну систему.

Попередні дослідження впливу нікотину на поведінку дрозодфіли показали, що гострий вплив нікотину порушує просту вроджену поведінку мух, таку як здатність до негативного геотаксису [8; 43; 71], і що цей ефект у чутливих до nAChR дрозодфіл опосередковується альфа-бунгаротоксином, через вихід біогенних амінів [29]. Дослідження Ren та ін. (2012) показали причетність *Da7* до хронічної гіперактивності, спричиненої ніотином, у дрозодфіл [66]. Згідно з цими даними, рецептор *Da7* експресується, зокрема, у грибоподібних тілах – структурах, що відіграють ключову роль у формуванні пам'яті, навчанні та реагуванні на винагороду, а також у центральному комплексі, зокрема у віялоподібному та еліпсоїдному тілах, що відповідають за координацію рухів і просторову орієнтацію. Гомологія *Da7*, його експресія в цих ключових зонах мозку, а також його участь у спричиненій ніотином поведінці дорослих мух роблять *Da7* кандидатом на посередництво ефектів нікотину під час його впливу на розвиток комах, а саму дрозодфілу – зручною моделлю для подібних досліджень.

Ще однією особливістю, що робить дрозодфілу надзвичайно зручним організмом для вивчення токсичного стресу є здатність окремих соматичних клітин на певних стадіях індивідуального розвитку (зокрема клітин слиних залоз личинок) до багаторазової повногеномної ампліфікації шляхом ендоредуплікації. Ендоцикли (циклічна реплікація хромосом та подальша заборона мітотичного поділу) є ефективним механізмом для підвищення генної експресії та підвищення метаболічного потенціалу клітин. Ендоциклічні клітини нездатні до поділів, зате можуть забезпечувати репарацію ушкоджених тканин [50; 93] та пришвидшене зростання тканин та організмів [51]. Для дрозодфіли показано, що зміни у інтенсивності ендоредуплікації можуть бути відповіддю на фізіологічний стрес, кліматичні фактори [28; 84], склад харчової суміші [11], вплив ксенобіотиків [1; 58; 59] та фізичних факторів [22; 78] та лежати в основі адаптації до умов середовища [82; 83].

Численні дослідження присвячені контролю ендоредуплікації; як і звичайний клітинний цикл, ендоцикл контролюється ключовими регуляторами, такими як цикліни, циклін-залежні кінази та їх інгібітори [28; 44; 99]. Показано,

що важливу роль відіграють гуморальні фактори, зокрема ювенільний гормон і екдистерон, які здатні модулювати як тривалість клітинного циклу, так і рівень плоідності клітин [57; 75; 98]. Крім того, у процесах переходу від мітозу до ендоеиклів, зокрема під час оогенезу у *Drosophila melanogaster*, важливу роль відіграють сигнальні шляхи, з яких найбільш вивчений Notch. Активація цього шляху сприяє інгібуванню мітотичної активності та ініціації ендоредуплікації в клітинах фолікулярного епітелію, частково через регуляцію експресії Fizzy-related (*Fzr*) – ключового активатора ендоеиклів [17; 76]. З іншого боку, у дрозофіли значний внесок у політенізацію хромосом належить спадковим факторам, зокрема генотипам лабораторних ліній [44; 83].

Мета даної роботи – комплексно оцінити вплив нікотину з нікобустеру для електронних сигарет на онтогенез *Drosophila melanogaster*, зокрема на темпи розвитку, виживаність, репродуктивну здатність і ступінь політенізації клітин слинних залоз на личинковій стадії.

Матеріали та методи

Мух *Drosophila melanogaster* дикого типу лінії Canton-S вирощували при температурі 24°C у контролі на стандартному живильному середовищі, що містило дріжджі, цукор, манну крупу та агар (контроль, варіант 1) та у досліді з додаванням до поживного середовища нікобустеру українського виробника South Bridge: 0,1 мг/мл нікотину (варіант 2), 0,2 мг/мл нікотину (варіант 3) та 0,3 мг/мл нікотину (варіант 4). Таким чином, нікотин, внесений у поживне середовище у формі нікобустера, надходив до організму мух, починаючи з моменту відкладання яєць, забезпечуючи безперервну експозицію на всіх стадіях розвитку – від ембріона до імаго.

Мух утримували в пробірках по 5 самиць, 2 самці. Через 3 доби батьківських мух видаляли із пробірок. Для визначення часу проходження розвитку від яйця до імаго фіксували час у днях, необхідних для вилуплення 50% лялечок (LT_{50}).

Репродуктивну здатність мух визначали за кількістю нащадків імаго, отриманих від однієї пари мух. Цей показник залежить від плодючості батьківського покоління та виживання нащадків на преімагінальних стадіях розвитку. Він дуже тісно пов'язаний із загальною пристосованістю особин за дії різних речовин та факторів [96]. Кількість нащадків рахували від вильоту першої до останньої мухи [70].

Тривалість життя мух з контрольного і дослідних варіантів вивчали, помістивши по 10 особин кожної статі окремо на поживні середовища з різними концентраціями нікобустеру для електронних сигарет та в стандартному поживному середовищі у контролі. Живих мух підраховували щодня, а середовище замінювали на 5-й день. Мух утримували до тих пір, поки 50% особин в кожній пробірці (Lt_{50}) не загинули. Результати виражали в днях [70].

Для більш детального вивчення плодючості було виконано тест на постембріональну загибель [4]. Для цього етапу досліду після виходу личинок на стінки пробірок спостерігали утворення лялечок. На цій фазі проводили розрахунок загальної кількості лялечок у дослідній та контрольній групах. Якщо з лялечки виходило імаго (доросла муха), то на стінках пробірок залишалася пуста прозора оболонка, яку легко можна було відрізнити від загиблих темних непрозорих лялечок. Таким чином, після завершення виходу імаго проводили підрахунок загиблих лялечок. Основним показником рівня домінантних летальних мутацій є частота постембріональних втрат, яка оцінюється за відношенням кількості загиблих лялечок до загальної кількості лялечок за формулою:

$$\text{ДЛМ} = \frac{\text{ЗЛ}}{\text{ЖЛ} + \text{ЗЛ}} \times 100\%,$$

де: ЗЛ - кількість загиблих лялечок;

ЖЛ - кількість живих лялечок.

Для порівняння експериментальних даних з контрольними, використовували t-критерій Стюдента.

Для виготовлення препаратів слинних залоз відбирали личинок дрозофіли жіночої статі на L3 стадії розвитку, вирощених на контрольному та двох дослідних середовищах зі вмістом нікотину 0,2 мг/мл і 0,3 мг/мл відповідно. Дисекцію слинних залоз та виготовлення мікропрепаратів клітин з політеними хромосомами провадили за стандартною методикою [3].

Ступінь політенізації хромосом визначали, виходячи з таких положень: завдяки припиненню ендоредуплікації на личиночній стадії L3 усі клітини слинних залоз у *Drosophila melanogaster* розподілені на чотири класи за кількістю хромосом у ядрі (256C, 512C, 1024C і 2048C); класи відрізняються між собою за шириною хромосом та інтенсивністю їх забарвлення ацетоорсеїном [1; 22; 69; 78]. На цитологічних препаратах слинних залоз 10 личинок для кожного з дослідних і контрольного варіантів визначали кількість і відсоткове співвідношення клітин у кожному класі, вірогідність відмінностей між розподілами визначали за допомогою критерію Пірсона [2]. Показник середньої політенії хромосом розраховували на основі даних про розподіл ядер за рівнями C-значень, відповідно до формули:

$$\text{СПХ} = \frac{\Sigma[(n_1 \times 256C) + (n_2 \times 512C) + (n_3 \times 1024C) + (n_4 \times 2048C)]}{N},$$

де n_1 , n_2 , n_3 , n_4 - кількість ядер із хромосомами відповідного рівня політенії (256C, 512C, 1024C, 2048C), а N – загальна кількість ядер у вибірці [27].

Вірогідність відмінностей між показниками середньої політенії хромосом визначали за допомогою критерію Крассела-Уоліса [2].

Результати дослідження та їх обговорення

Розвиток тварин – це точний і складний процес, який дозволяє кожній особині обрати найкращий час і відповідні умови для переходу від ювенільної до дорослої стадії. У багатьох видів еволюціонували адаптивні механізми, що через нейроендокринні сигнали оптимізують розвиток і підвищують виживання в різних умовах [18; 31; 45].

У комах цим керують кілька ключових гормонів і нейропептидів, серед яких головним є екдизон – стероїдний гормон, що запускає линьку й метаморфоз. Піковий викид екдизону спричиняє виділення мозкового нейропептиду РТТН (prothoracicotropic hormone). РТТН вивільняється з нервових клітин мозку, потрапляє в протораціальну залозу (PG) і запускає там біосинтез екдизону. Без РТТН нормальний початок метаморфозу неможливий в багатьох видів, зокрема в гусіні *Manduca sexta*, шовковичного шовкопряда *Bombyx mori*, колорадського жука *Leptinotarsa decemlineata* та плодової мушки *Drosophila melanogaster* [41; 52; 95].

Цікаво, що і хребетні, і комахи мають подібні системи стероїдно-гормонального контролю: в комах екдизон регулюється РТТН, а в хребетних – кортикостероїди керуються АКТГ (adrenocorticotrophic hormone), функціональним аналогом РТТН. Обидва гормони виділяються імпульсно й забезпечують своєчасний розвиток і дозрівання [48; 67].

Довгий час вважалося, що РТТН-нейрони в мозку – єдине джерело сигналу, що запускає пік екдизону для кожної линьки і початку заляльковування [30; 87]. Однак нові дослідження показують, що сама протораціальна залоза також отримує різні сигнали безпосередньо (зокрема, про харчовий стан або рівень поживних речовин), і може самостійно відкладати або прискорювати виробництво екдизону [37; 67; 95].

При цьому РТТН залишається головним ініціювальним фактором: його імпульси завжди передують підйомам екдизону безпосередньо перед кожною линькою і заляльковуванням [52; 55]. На виділення РТТН впливають зовнішні фактори – освітлення, температура, щільність популяції, якість їжі, які, через РТТН, регулюють швидкість росту та час метаморфозу [30; 77].

У плодової мушки *Drosophila melanogaster* дві пари РТТН-нейронів у кожній півкулі мозку проєктують свої волокна в протораціальну залозу й вивільняють РТТН. Через рецептор Torsو вони активують MAPK-каскад, що призводить до синтезу екдизону й запускає метаморфоз. Мутація в гені *ptth* або видалення РТТН-нейронів затримує заляльковування на 4–5 днів і збільшує розмір лялечки [34; 52].

Додаткові дослідження виявили, що РТТН-нейрони також отримують нейрохімічні сигнали від інших нейронів: нейропептид AstA через свій рецептор AstAR1 пришвидшує вивільнення РТТН і запуск метаморфозу; корозонін (Crz) діє в середині третьої личинкової стадії, збільшуючи ріст і впливаючи на час

підйому екдизону; фактор розсіювання пігменту (PDF) передає циркадну інформацію, щоб узгодити внутрішній «годинник» залози й мозку [19; 38; 52].

Роль класичних нейромедіаторів (ацетилхоліну, октопаміну, дофаміну тощо) у розвитку дрозофіли досі вивчається, хоча в інших комах їх вплив на час метаморфозу доведений [6; 60].

Ці спостереження свідчать про чутливість системи запуску метаморфозу до нейротрансмітерних впливів, а отже – і до нікотину як фармакологічного агоніста nAChR.

З метою експериментальної перевірки цього припущення ми дослідили дію нікотину, введеного з поживним середовищем у формі нікобустера, на динаміку розвитку дрозофіли. Дані наведено на рис. 1.

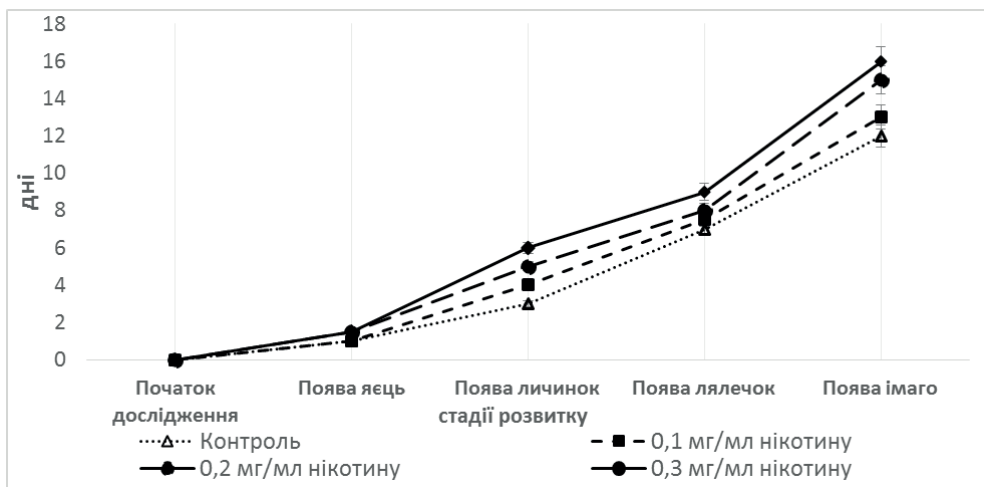


Рис. 1. Динаміка розвитку *Drosophila melanogaster* від яйця до імаго за різних концентрацій нікотину в поживному середовищі

Розвиток дрозофіли у дослідних варіантах, що містили нікотин, характеризувався дозозалежним сповільненням усіх онтогенетичних стадій. Мухи, що містилися на мінімальній концентрації нікотину (0,1 мг/мл) у поживному середовищі мали невелику затримку розвитку у порівнянні з контролем (на одну добу протягом всього періоду розвитку), – кожна наступна стадія після яйця відбувалася із затримкою на одну добу.

У наших дослідженнях нікобустер вводився безпосередньо в поживне середовище, отже стадії розвитку від яйця до личинки 3 віку зазнавали впливу нікотину. Вже на етапі появи яєць відбувається затримка у півдобу у варіантах дослідів з 0,2 і 0,3 мг/мл нікотину у середовищах.

На відміну від інгаляційної моделі, запропонованої El-Merhie зі співавторами, 2021, де дорослі самиці отримували нікотин через дихальні шляхи [25], наша модель забезпечує пероральне надходження токсиканта, з максимальним

поглинанням саме на личинковій стадії. Оскільки личинка є такою стадією, що активно живиться, основне надходження нікотину до тканин, ймовірно, відбувається через шлунково-кишковий тракт. Завдяки цьому личинка постає як критична мішень дії нікотину – у період, коли активуються РГТН-нейрони, тривають ключові нейроендокринні процеси, і клітини демонструють високу чутливість до молекулярних та стресових сигналів. Пероральна модель дозволяє безпосередньо досліджувати механізми дії нікотину саме на цій стадії, де найбільш інтенсивно проявляються як системні, так і клітинні ефекти.

Появу перших личинок реєстрували із затримкою в 1, 2 і 3 доби на варіантах дослідів 2, 3 і 4 відповідно. Інтервал від вилуплення з яйця до початку метаморфозу становив у контролі близько 100 годин, за цей час личинка зазнає майже 1000-кратного збільшення ваги. Як відомо, личинка зростає за рахунок збільшення клітин, а не за рахунок розподілу клітин, і окремі личинкові клітини стають надзвичайно великими та поліплоїдними [88].

Заляльковування мух у дослідних варіантах з нікотинном потребувало більш тривалого часу у порівнянні з контролем. На 12 годин збільшився час до появи перших лялечок у варіанті 2, на 24 і 48 годин для варіантів 3 і 4.

У контрольній групі кількість лялечок починає зростати з 7-го дня розвитку, досягаючи максимуму приблизно на 8-9-ту добу, а далі поступово знижується. Така динаміка свідчить про синхронний перебіг метаморфозу та низький рівень постембріональної загибелі за стандартних умов (рис. 2).

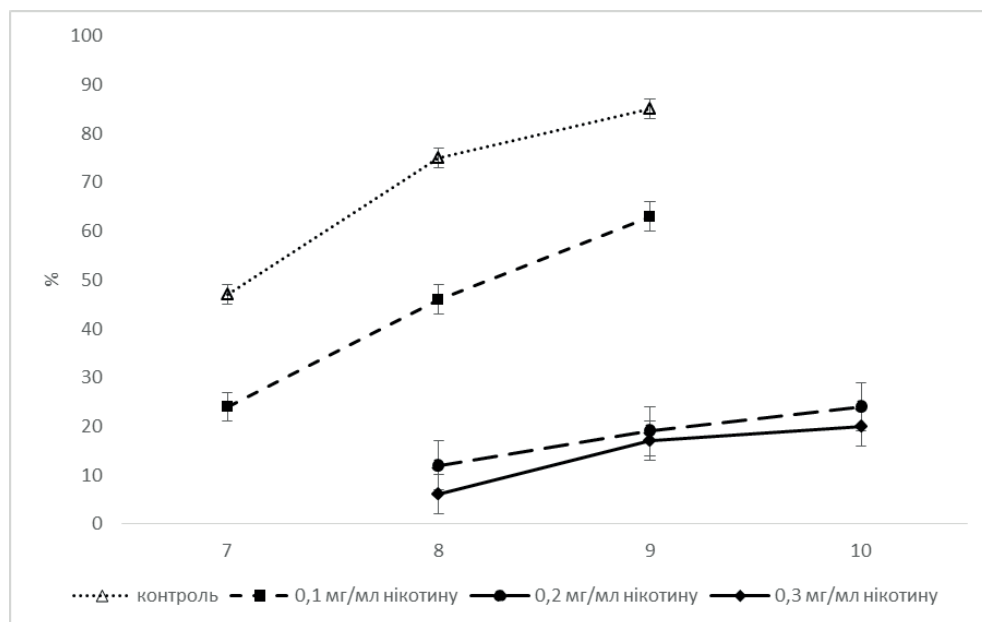


Рис. 2. Динаміка заляльковування в контролі та досліді за днями спостереження

У дослідних варіантах, що містили нікотин, спостерігалася дозозалежне зміщення кривої заляльковування. При концентрації 0,1 мг/мл (варіант 2) максимальна кількість лялечок спостерігався пізніше – на 9-10-ту добу. При 0,2 мг/мл і 0,3 мг/мл відбувалося суттєве зменшення загальної кількості лялечок, що свідчить про затримку розвитку і підвищену постембріональну смертність.

Затримка формування лялечок свідчать про негативний вплив нікотину на метаболічні та гормональні шляхи розвитку, що узгоджується з даними Mortis та співавторів (2018), які показали, що хронічна дія нікотину призводить до зменшення розміру мозку личинок, зниження активності тирозингідроксилази та зменшення кількості дофамінергічних нейронів у дорослих мух [56], що може бути наслідком порушень у нейророзвитку, пов'язаних з надмірною активацією nAChR.

Крива кількості лялечок чітко демонструє дозозалежну затримку розвитку та зниження виживаності личинок під впливом нікотину з рідин для електронних сигарет. Зсув піку вниз і вправо свідчить про уповільнення метаморфозу та підвищену постембріональну загибель.

Вихід перших імаго з пупаріїв реєстрували у контролі на 12 добу, у дослідах на 13, 15 і 17 добу на варіантах 2, 3 і 4 відповідно.

Окрім затримки розвитку, у дослідних варіантах із додаванням нікотину до поживного середовища також фіксувалося виражене зниження плодючості. Вже за мінімальної концентрації (0,1 мг/мл) спостерігалася зменшення кількості лялечок і дорослих особин порівняно з контролем, а також підвищення постембріональної смертності (табл. 1).

Таблиця 1

Плодючість та постембріональна загибель *Drosophila melanogaster* за різних концентрацій нікотину в поживному середовищі, n=30-40 сімей, абс, %

Поживне середовище	Кількість лялечок	Кількість імаго	Постембріональна загибель, %
Контроль	85,4 ± 2,1 (100 %)	79,0 ± 4,2 (100 %)	7,5
0,1 мг/мл	63, 8 ± 3,1* (74,7 %)	54,0 ± 3,6* (68,4 %)	15,4*
0,2 мг/мл	24,0 ± 5,2* ** (28,1 %)	14,4 ± 4,6* ** (18,2 %)*	40* **
0,3 мг/мл	19,5 ± 4,6 ** (22,8 %)	11,79 ± 4,6 ** (14,9 %)	39,5* **

* – достовірність відмінностей у порівнянні з контролем

** – достовірність відмінностей у порівнянні з концентрацією нікотину 0,1 мг/мл

При вищих концентраціях (0,2–0,3 мг/мл) спостерігалася різке зменшення числа життєздатних нащадків: кількість імаго зменшувалася до 14,4 та 11,8 особин відповідно, що становить лише 18,2% і 14,9% від контролю. Част-

ка постембріональної загибелі при цьому зростала до 40%, що є статистично достовірним ($p < 0,05$).

Таким чином, нікотин з рідин для електронних сигарет виявляє токсичний вплив на *Drosophila melanogaster* вже в низьких дозах, пригнічуючи репродуктивну функцію та підвищуючи летальність на преімагінальних стадіях розвитку. Враховуючи те, що личинкова стадія (період активного росту, метаболізму й гормональної регуляції) є основним етапом впливу обраної моделі досліджень, подальший аналіз було спрямовано на оцінку клітинного рівня адаптаційних відповідей.

Відомо, що такий своєрідний шлях росту, який властивий личинкам дрозофіли, а саме – збільшення не кількості клітин шляхом мітотичних поділів, а збільшення розмірів клітин завдяки проходженню ендоциклів, властиве фактично усім тканинам личинок, окрім первинних статевих клітин, нейроblastів та клітин імагінальних дисків [7; 5; 24], знаходиться, серед іншого, під гуморальним контролем ювенільного гормону (JH) та екдистерону [20; 57], що взаємодіють між собою. Під час личиночної стадії ювенільний гормон підтримує ріст і запобігає метаморфозу, його високі титри утримують личинку у активному рості і стимулюють політенізацію клітин її тіла. Високий рівень ювенільного гормону блокує експресію ключових генів ініціації метаморфозу завдяки активній транскрипції JH-залежного гену *Kr-h1* (Krüppel homolog 1), який є головним перемикачем програм личиночного та дорослого розвитку [39; 42]. На личиночній стадії хвилі збільшення титрів екдизону, який виробляють клітини проторакальних залоз під впливом РТТН відбуваються циклічно, викликаючи линяння, але не метаморфоз [52; 81].

На останньому личинковому етапі рівень JH різко падає, дозволяючи активній формі – 20-гідроксиекдизону стимулювати метаморфоз завдяки взаємодії з гетеродимерним білком, який складається з EcR (екдизонового рецептора) та USP (Ultraspiracle, ортолога ретіноїд-Х-рецептора хребетних) [47; 86]. Цей комплекс запускає каскад експресії декількох сотен метаморфозних генів через транскрипційні фактори Broad (Br), E74, E75 [91]. Активація генів метаморфозу іде двома хвилями і врешті решт призводить до залялькування, програмованої загибелі личинкових тканин та формування органів імаго. У цей період JH майже відсутній, а екдизон досягає піку, забезпечуючи остаточний перехід до дорослої стадії [12]. Після виходу імаго з лялечки JH знову зростає, регулюючи статеве дозрівання та поведінкові програми, шляхом активації значно меншої, у порівнянні з екдизоном, кількості генів [9; 10].

Протягом всього личинкового розвитку клітини тіла личинки у цілому і слинних залоз зокрема (рис. 3), потерпають ендоцикли, досягаючи високого ступеня політенії хромосом у ядрах.

У складних молекулярних механізмах ініціації переходу мітоз-ендоцикл (MES) важливу роль відіграє ювенільний гормон. Цей сесквітерпеноїд продукується клітинами *corpora allata* і індукує гетеродимерізацію свого рецеп-

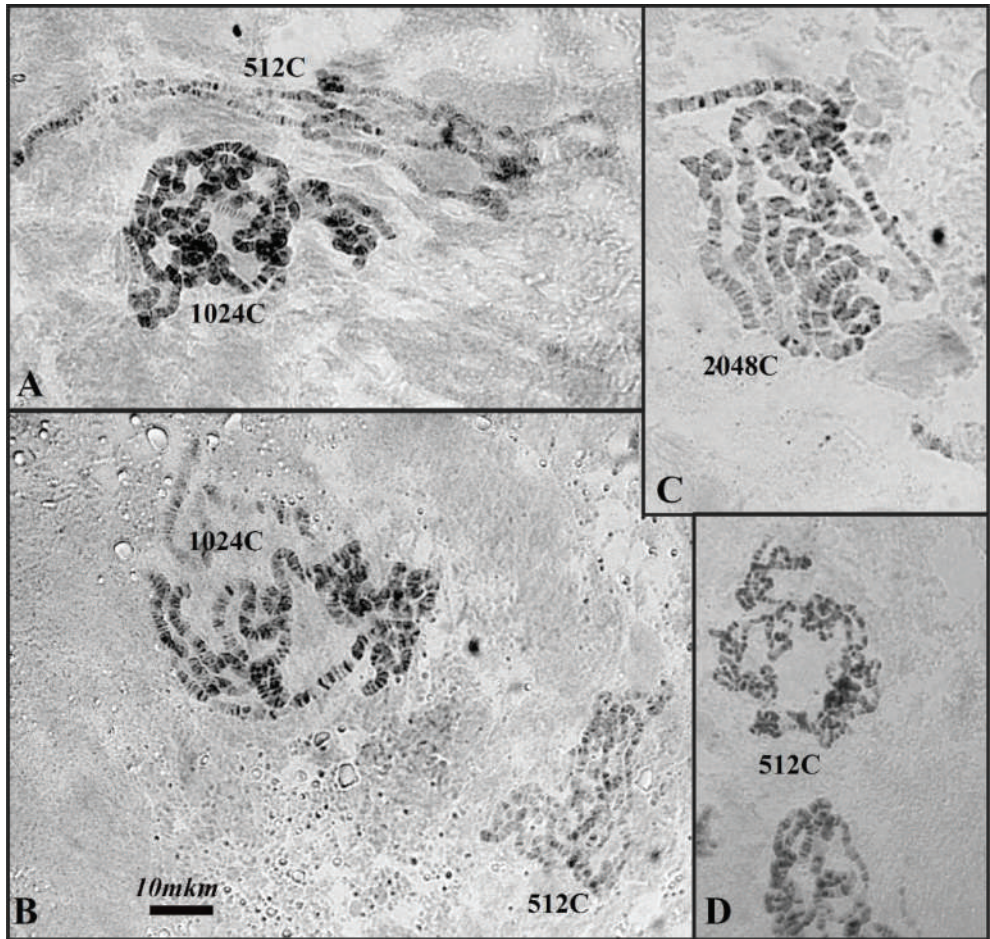


Рис. 3. Мікрофотографії препаратів політених хромосом клітин слинних залоз контрольного (А) та дослідних варіантів (В – личинки, вирощені на 0,2 мг/мл вмісті нікотину у середовищі, С, D – личинки, вирощені на 0,3 мг/мл вмісті нікотину у середовищі)

тора Methoprene-tolerant (Met), з білком Taiman (Tai). Серед іншого, комплекс JH-Met/Tai на пряму активує транскрипцію циклін-залежної кінрази Cdk6 та adenovirus E2 factor-1 (E2f1), для яких встановлено зворотній негативний зв'язок з рівнем поліплоїдії [65; 92], відіграючи таким чином значну роль у поліплоїдизації клітин.

Нещодавні дослідження виявили тісний зв'язок між ювенільним гормоном, екдизоном та розміром тіла дрозофіли [54]: показано, що ювенільний гормон може регулювати розмір тіла дрозофіли не тільки шляхом контролю тривалості росту, а ще й шляхом регулювання FOXO-залежної швидкості росту завдяки взаємовідносинам з екдизоном, який є антагоністом сигнального шляху інсуліну/інсуліноподібного фактора росту (IIS).

Таким чином, процес політенізації, властивий клітинам личинкових тканин дрозофіли є складним механізмом збільшення геномної копійності. Контроль політенізації – це тонко налаштована взаємодія між метаболічними сигналами, регуляцією клітинного циклу та гормональними факторами, такими як ювенільний гормон та екдизон. Кожен із цих компонентів сам по собі складний, а їх комплексний перетин створює динамічну мережу, де навіть незначні зміни можуть мати масштабні наслідки для клітини та організму в цілому. У той же час політенія є ефективним механізмом для прискорення росту та інтенсифікації генної експресії у еукаріот [46; 83]. Завдяки збільшенню кількості геномної ДНК, ендоеиклічні клітини є дуже активними метаболічно [24]. Окрім того, є свідчення на користь того, що ендоредуплікація є своєрідним механізмом захисту ДНК від ушкоджень [23] та апоптозу [53]. Переважна більшість авторів відмічає, що високі рівні політенізації клітин личинок дрозофіли позитивно корелюють зі стресостійкістю, плодючістю і іншими компонентами пристосованості організму [1; 78; 83; 84]. Усі ці властивості ендоредуплікованих клітин уможливають їх використання як чутливого маркера токсичної дії під час онтогенезу.

Результати оцінки ступеня політенізації ядер клітин слинних залоз личинок третього віку у контрольному та дослідних варіантах наведені на рис. 4. Незважаючи на те, що нікотин виявляє загальну токсичну дію на *Drosophila melanogaster*, знижуючи виживаність, затримуючи розвиток і зменшуючи кількість нащадків, отримані дані свідчать про підвищення ступеня політенізації ядер клітин слинних залоз у личинок, що розвивалися на середовищах із нікотинном.

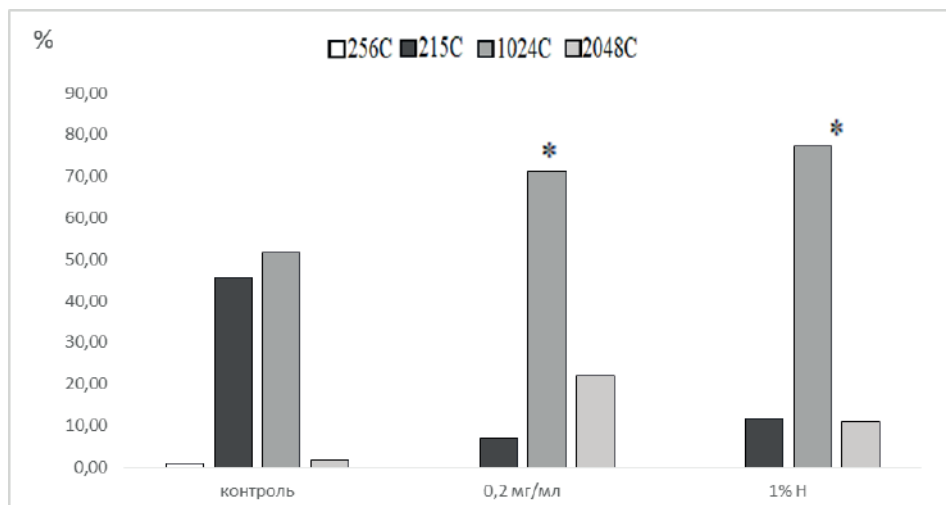


Рис. 4. Варіаційні ряди розподілу клітин на класи ядер з різним ступенем (256C, 512C, 1024C і 2048C відповідно) політенізації у личинок контрольного та дослідних варіантів.

* - відмінності між розподілом класів у контролі порівняно з дослідними варіантами вірогідні згідно з критерієм Пірсона при $P < 0,01$

Як вже зазначалося, протягом свого розвитку, вихідно диплоїдні клітини (2C) слинної залози личинки дрозофіли проходять до 10 циклів політенізації, які можна описати таким чином: $2C \rightarrow 4C \rightarrow 8C \rightarrow 16C \rightarrow 32C \rightarrow 64C \rightarrow 128C \rightarrow 256C \rightarrow 512C \rightarrow 1024C \rightarrow 2048C$; згідно зі спостереженнями, перед залялькуванням усі клітини слинної залози встигають пройти мінімум сім циклів і досягти стадії 256C. Переважна більшість клітин, в залежності від генотипу та умов навколишнього середовища, встигає пройти ще від одного до трьох циклів політенізації; співвідношення клітин, що досягли різного ступеня політенізації, є показником активності роботи генетичного апарату клітини та його відповіді на умови довкілля [84].

При перевірці розподілу ядер клітин слинних залоз личинок контрольного варіанту було виявлено, що переважна більшість з них досягла восьмого (512C) і дев'ятого (1024C) циклів політенізації (рис. 4). Трохи неочікувані результати були отримані при перевірці розподілу і визначенні показника середньої політенізації (табл. 2) у личинок дослідних варіантів, вміст нікотину 0,2 мг/мл і 0,3 мг/мл відповідно. Виявилося, що незважаючи на отримані нами у експериментах та відомі з літератури ефекти експозиції личинок на нікотин-вмісному середовищі (зменшені розміри личинок та їх органів, підвищена ембріональна загибель), нам не вдалося поспостерігати очікуваного негативного ефекту. Навпаки, в обох варіантах – і 0,2 мг/мл і 0,3 мг/мл ми спостерігали стимуляцію циклів політенізації у клітинах слинних залоз.

Порівняно з контролем, у слинних залозах личинок, вирощених на дослідному середовищі з 0,2 мг/мл нікотину, фактично відсутні клітини, що зупинилися на 7 циклі політенізації (256C), значно зменшена доля клітин восьмого циклу (512C) і збільшені долі клітин на дев'ятому (1024C) і десятому циклу (2048C) відповідно. Це зазнало відображення у найбільшому показнику середньої політенії хромосом клітин слинних залоз серед усіх досліджених варіантів (табл. 2).

Таблиця 2

Показники середньої політенії хромосом клітин слинних залоз личинок у контрольному і дослідних варіантах

Варіант	Контроль	0,2 мг/мл	0,3 мг/мл
Показник середньої політенії	756,04 ± 66,54	1193,78 ± 33,25*	1086,21 ± 54,18*

* – відмінності вірогідні на рівні значущості – $p < 0,05$ за критерієм Краскела-Уоліса.

Подвоєння вмісту нікотину у середовищі призвело до подібного ж ефекту, але з деякими відмінностями, які, втім, не були вірогідними у порівнянні з результатами, отриманими на середовищі з 0,2 мг/мл вмістом нікотину. Найбільшим за кількістю клітин був клас, у якому ядра клітин пройшли дев'ятий цикл політенізації (1024C). Порівняно з личинками, вирощеними на меншому вмісті нікотину, було виявлено меншу кількість клітин, що досягли десятого циклу

(2048С) і більшу кількість клітин, ядра яких зупинилися на восьмому (512 С) циклі політенізації.

Таким чином, нами був зафіксований ефект підвищення ступеня політенії ядер клітин слинних залоз личинок дрозофіли, вирощених на нікотин-вмісному середовищі, причому найвищі показники були властиві клітинам слинних залоз личинок, вирощених на півпроцентній концентрації нікотину у поживному середовищі, а найнижчі – клітинам личинок контрольного варіанту.

Традиційно високі ступені політенії ядер органів личинок дрозофіли, клітини тіла яких використовують ендоепіциклічний шлях як стратегію швидкого та дешевого зростання та ефективної продукції потрібних речовин, уникаючи витрачання часу, матеріалів та енергії на проходження повноцінних мітотичних циклів – властиві клітинам личинок, умови існування яких є сприятливими, і приводять до можливості за рахунок швидкого зростання закласти необхідні ресурси для залялькування тощо, отримати більші розміри та вагу личинок [22; 23; 75; 83; 84]. Яким же чином тоді можна узгодити між собою несприятливі ефекти нікотину на загальну плодючість, тривалість життя оброблених мух і вищі ступені політенізації клітин слинних залоз? Ми можемо запропонувати декілька механізмів пояснення цього феномену, базуючись на тому, що відомо про молекулярні основи контролю цього процесу.

Регуляція політенізації клітин є багаторівневим процесом, що залежить від взаємодії сигнальних шляхів клітинного росту, гормонального контролю та механізмів регуляції клітинного циклу. Ці механізми не працюють ізольовано: будь-яка зміна рівня інсулінового сигналу, гормональної регуляції чи активності регуляторів клітинного циклу може порушити баланс між підтримкою політенізації та її припиненням. Взаємодія між цими факторами формує динамічну, чутливу до змін мережу, в якій навіть невеликі зміни можуть мати критичні наслідки, впливаючи на ріст, метаболізм, регенерацію тканин та загальну життєздатність організму. Зовнішні фактори, такі як нікотин, можуть потенційно впливати на ці регуляторні етапи, змінюючи баланс між сигнальними шляхами та їх ефекторами.

Згідно з даними літератури та нашими експериментальними спостереженнями, вирощування *Drosophila melanogaster* на нікотин-вмісному середовищі зменшує виживаність мух, уповільнює вихід імаго з лялечок. Вираженість ефектів залежала від концентрації нікотину [89]. Крім того, як показали дослідження Morris et al. (2018), нікотинова експозиція призводила до зменшення розміру мозку личинок, зниження флуоресценції тирозингідроксилази у центральному мозку, а також до зменшення кількості дофамінергічних нейронів у дорослих мух [56]. Подібні ефекти описані й для пренатального впливу нікотину у мишей та щурів [72; 74].

В обох випадках автори пов'язують ці зміни із порушенням процесів диференціації та проліферації клітин, зокрема в межах дофамінергічної системи, яка розглядається як один із потенційних механізмів дії нікотину у комах.

Ацетилхолін є основним нейромедіатором у нервовій системі комах, а відповідні нікотинові ацетилхолінові рецептори (nAChR), зокрема $\alpha 7$, розглядаються як потенційні мішені дії нікотину на онтогенез дрозофіли. Відомо, що пренатальний вплив нікотину супроводжується змінами в дофамінергічній системі [16; 61; 80] і полягає у модуляції нейрональної активності та збільшенні вивільнення дофаміну в синапсах.

Bainton зі співавторами показали, що гострий вплив нікотину на дорослих мух спричиняє порушення в тесті на негативний геотаксис, а дофамін опосередковує чутливість до нікотину у цьому тесті [8]. Подальші дослідження підтвердили роль дофаміну у формуванні гіперактивності у дорослих мух після хронічної нікотинової експозиції [65; 97].

Окрім нейроповедінкових ефектів, дофамін також залучений у гормональну регуляцію розвитку. Зокрема, у самиць *Drosophila* встановлено, що біогенні аміни, включаючи дофамін, посередньо регулюють метаболізм ювенільного гормону, впливаючи на його рівень та деградацію [35; 36; 64].

Було показано, що зниження рівня дофаміну призводить до зменшення деградації ювенільного гормону, що, у свою чергу, може впливати на життєздатність організму через дисбаланс між ювенільним гормоном та екдизоном. З огляду на це, можна припустити, що аналогічні взаємозв'язки існують і на личинкових стадіях розвитку. Ця гіпотеза узгоджується з високою консервативністю регуляторних механізмів нейрогормонального контролю у дрозофіли.

Оскільки ювенільний гормон сприяє пролонгуванню політенізації, підтримуючи ендоредуплікацію клітин, а хронічне нікотинове навантаження здатне виснажувати дофамінергічні нейрони, можливе опосередковане порушення гормонального балансу. Це, в свою чергу, може впливати на динаміку політенізації в тканинах личинки. Вивчення взаємодії між дофаміном, ювенільним гормоном і клітинним циклом потребує подальших досліджень, оскільки має потенціал пояснити складні молекулярні ефекти нікотину на ранніх етапах онтогенезу.

Політенізація клітин *Drosophila melanogaster* залишається складним та недостатньо дослідженим процесом, що регулюється взаємодією нейрогормональних факторів, гормональної сигналізації та клітинних сигнальних шляхів. Відомо, що ювенільний гормон сприяє пролонгуванню політенізації, тоді як екдизон, навпаки, ініціює метаморфоз і залялькування [57; 75, 98]. Порушення цього гормонального балансу може призводити до затримки розвитку або атипових змін у клітинному циклі.

Як було показано вище, нікотин здатен впливати на рівень дофаміну та, опосередковано, на гормональний фон організму, включно з ювенільним гормоном і екдизоном. Додатково, нікотин може індукувати окиснювальний стрес, що негативно впливає на життєздатність дофамінергічних нейронів і тим самим змінює гормональну регуляцію розвитку.

Окремої уваги заслуговує потенційний вплив нікотину на інсуліновий сигнальний шлях (IIS), який регулює ріст, проліферацію та метаболізм. Оскільки екдизон є антагоністом цього каскаду [54], втручання нікотину у баланс між IIS та екдизоном може впливати на процеси політенізації.

Ще один можливий шлях дії – зміна метаболізму стеролів, зокрема холестеролу, який є попередником екдизону. Відомо, що нікотин може впливати на транспорт і рівень стеролів у клітинах, опосередковано змінюючи доступність екдизону [49; 85].

Таким чином, питання впливу нікотину на політенізацію потребує подальших досліджень. Відомі механізми показують, що цей вплив може реалізовуватися через кілька сигнальних шляхів, включаючи зміни в дофамінергічній системі, окиснювальний стрес, модуляцію IIS та баланс стероїдів. Дослідження цих процесів може не лише поглибити розуміння регуляції клітинного циклу у комах, але й допомогти вивчити загальні принципи гормональної регуляції та впливу токсичних факторів на розвиток і диференціацію клітин.

ВИСНОВКИ

Пероральна експозиція нікобустера викликає дозозалежну затримку розвитку, зниження плодючості та підвищення постембріональної смертності у *D. melanogaster*.

Нікотин активує компенсаторні механізми у вигляді підвищення ступеня політенізації, збільшуючи геномну копійність ядер клітин слинних залоз, що може бути адаптивною відповіддю на токсичний стрес.

Стаття надійшла до редакції 30.06.2025

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алексеева Т. Г., Шерен А. В., Білоконь С. В. Оцінка впливу харчових барвників на *Drosophila melanogaster* Meigh. Вісн. ОНУ. Біологія. 2020. Т. 25, вип. 1(46), С. 55–66. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1\(46\).205811](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1(46).205811)
2. Атраментова Л. А., Утевська О. М. Статистичні методи в біології: Підручник. Х.: ХНУ імені В. Н. Каразіна, 2007. 288с.
3. Алексеева Т. Г., Білоконь С. В. Політенні хромосоми *Drosophila melanogaster* : метод. вказівки до великого спец. практикуму. Одеса : Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова. 2019. 58 с.
4. Скоробагатько Д. А., Страшний В. Ю., Мазилів А. А. Компоненты приспособленности в потомстве *Drosophila melanogaster* после острого γ -облучения. *Фактори експ. еволюції організмів*. 2015. Т. 16. С. 78–82.
5. Almeida Machado Costa C. M., X.-F. Wang, C. Ellsworth, W.-M. Deng. Polyploidy in development and tumor models in *Drosophila*, *Seminars in Cancer Biology*. 2022. V. 81. P. 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.09.011>
6. Aizono Y., Endo Y., Sattelle D. B., Shirai Y. Prothoracicotrophic hormone-producing neurosecretory cells in the silkworm *Bombyx mori*, express a muscarinic acetylcholine receptor. *Brain Res*. 1997. V. 763. P. 131–136. doi: 10.1016/S0006-8993(97)00496-4
7. Bailey E. C., Kobielski S., Park J., Losick V. P. Polyploidy in tissue repair and regeneration. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. 2021. 13(10), a040881. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040881>
8. Bainton R. J., Tsai L. T., Singh C.M., Moore M. S., Neckameyer W.S., Heberlein U. Dopamine modulates acute responses to cocaine, nicotine and ethanol in *Drosophila*. *Curr Biol CB*. 2000. V. 10(4). P. 187–94. [https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00336-5](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00336-5)

9. Baumann A. A., Texada M. J., Chen H. M., Etheredge J. N., Miller D. L., Picard S., Warner R., Truman J. W., Riddiford L. M. Genetic tools to study juvenile hormone action in *Drosophila*. *Sci Rep*. 2017. V. 7, 2132. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02264-4>
10. Beckstead R. B., Lam G., Thummel C. S. Specific transcriptional responses to juvenile hormone and ecdysone in *Drosophila*. *Insect biochemistry and molecular biology*. 2007. V. 37(6). P. 570–578. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.03.001>
11. Britton J. S., Edgar B. A. Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activated mitotic and endoreduplicative cells by distinct mechanisms. *Development*. 1998. V.125: 2149–2158. <https://doi.org/10.1242/dev.125.11.2149>
12. Cai M. J., Liu W., Pei X. Y., Li X. R., He H. J., Wang J. X., Zhao X. F. Juvenile hormone prevents 20-hydroxyecdysone-induced metamorphosis by regulating the phosphorylation of a newly identified broad protein. *The Journal of biological chemistry*. 2014. V. 289(38), P. 26630–26641. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.581876>
13. Celniker S. E., Dillon L. A. L., Gerstein M. B., Gunsalus K. C., Henikoff S., Karpen G.H., et al. Unlocking the secrets of the genome. *Nature*. 2009 V. 459 (7249). P. 927–930. <https://doi.org/10.1038/459927a>
14. Chien S., Reiter LT, Bier E., Gribskov M. Homophila: human disease gene cognates in *Drosophila*. *Nucleic Acids Res*. 2002. V. 30(1). P. 149–51. <https://doi.org/10.1093/nar/30.1.149>
15. Chintapalli V. R., Wang J., Dow J. A. T. Using FlyAtlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease. *Nat Genet*. 2007 V. 39(6). P.715–720. <https://doi.org/10.1038/ng2049>
16. Cornelius M. D., Day N. L. Developmental consequences of prenatal tobacco exposure. *Current opinion in neurology*. 2009. V. 22(2). P. 121–125. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328326f6dc>
17. Deng W.M., Althausen C, Ruohola-Baker H. Notch-Delta signaling induces a transition from mitotic cell cycle to endocycle in *Drosophila* follicle cells. *Development*. 2001 V. 128(23). P. 4737–4746. <https://doi.org/10.1242/dev.128.23.4737>
18. Denver R. J. (1997). Environmental stress as a developmental cue: corticotropin releasing hormone is a proximate mediator of adaptive phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. *Horm. Behav*. 31, 169–179. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1383>
19. Deveci D., Martin F. A., Leopold P., Romero N. M. AstA signaling functions as an evolutionary conserved mechanism timing juvenile to adult transition. *Curr. Biol*. 2019. V. 29, 813.e–822.e. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.053>
20. Dubrovsky E. B. Hormonal cross talk in insect development. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2005. V. 16, I. 1, 6 – 11. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.11.003>
21. Dupuis J., Louis T., Gauthier M., Raymond V. Insights from honeybee (*Apis mellifera*) and fly (*Drosophila melanogaster*) nicotinic acetylcholine receptors: from genes to behavioral functions. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012. V.36(6). P. 1553–1564. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.04.003>
22. Dyka L. D., Shakina L. A., Strashnyuk V. Yu., Shckorbatov Yu. G. Effects of 36,6 GHz and static magnetic field on degree of endoreduplication in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes. *Int J Radiat Biol*. 2016. V. 92. P. 222–227. <https://doi.org/10.3109/09553002.2016.1137105>
23. Edgar B. A., Orr-Weaver T. L. Endoreplication cell cycles: more for less. *Cell*. 2001. V. 105, P. 297–306. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00334-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00334-8)
24. Edgar B., Zielke N., Gutierrez C. Endocycles: a recurrent evolutionary innovation for post-mitotic cell growth. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. 2014. V. 15. P. 197–210. <https://doi.org/10.1038/nrm3756>
25. El-Merhie N., Krüger A., Uliczka K., Papenmeier S., Roeder T., Rabe K. F., Wagner C., Angstmann H., Krauss-Etschmann S. Sex dependent effect of maternal e-nicotine on F₁ *Drosophila* development and airways. *Sci Rep*. 2021 V. 11(1). P. 4441. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81607-8>
26. Fayyazuddin A., Zaheer M. A., Hiesinger P. R., Bellen H. J. The nicotinic acetylcholine receptor Dalpha7 is required for an escape behavior in *Drosophila*. *PLoS Biol*. 2006. V. 4(3). P. e63. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040063>
27. Fráková V., Koprivý L., Pařová M., Kolarčík V., Mártonfi P. Evaluation of endopolyploidy patterns in selected *Capsicum* and *Nicotiana* species (*Solanaceae*). *Biologia*. 2021. V. 76. P. 2079–2092. <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00704-1>
28. Fox D. T., Duronio R. J. Endoreplication and polyploidy: insights into development and disease. *Development (Cambridge, England)*. 2013. V. 140(1). P. 3–12. <https://doi.org/10.1242/dev.080531>
29. Fuenzalida-Uribe N., Meza R.C., Hoffmann H.A., Varas R., Campusano J. M. nAChR-induced octopamine release mediates the effect of nicotine on a startle response in *Drosophila melanogaster*. *J Neurochem*. 2013 V. 125(2). P.281–290. <https://doi.org/10.1111/jnc.12161>

30. Gilbert, L. I., Goodman, W. Chemistry, metabolism, and transport of hormones controlling insect metamorphosis. In: Gilbert, L.I., Frieden, E. (eds). *Metamorphosis*. Springer, Boston, MA. 1981. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3246-6_5
31. Gotthard K., Nylin S. Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation: a selective review of plasticity in animal morphology and life history. *Oikos*. 1995. V. 74, 3–17. <https://doi.org/10.2307/3545669>
32. Gramates L. S., Marygold S. J., Santos G. D., Urbano J.-M., Antonazzo G., Matthews B. B., et al. FlyBase at 25: looking to the future. *Nucleic Acids Res.* 2017 V. 45(D1). D663–671. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1016>
33. Grauso M., Reenan R. A., Culetto E., Sattelle D. B. Novel putative nicotinic acetylcholine receptor subunit genes, Dalpha5, Dalpha6 and Dalpha7, in *Drosophila melanogaster* identify a new and highly conserved target of adenosine deaminase acting on RNA-mediated A-to-I pre-mRNA editing. *Genetics*. 2002 V. 160(4). P. 1519–1533. <https://doi.org/10.1093/genetics/160.4.1519>
34. Grillo M., Furriols M., de Miguel C., Franch-Marro X., Casanova J. Conserved and divergent elements in Torso RTK activation in *Drosophila* development. *Sci Rep*. 2012. 2. 762 <https://doi.org/10.1038/srep00762>
35. Gruntenko N. E., Karpova E. K., Adonyeva N. V., Chentsova N. A., Faddeeva N. V., Alekseev A. A., Rauschenbach I. Y. Juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone and dopamine interaction in *Drosophila virilis* reproduction under normal and nutritional stress conditions. *Journal of insect physiology*. 2005. V. 51(4). P. 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.01.007>
36. Gruntenko N. E., Karpova E. K., Alekseev A. A., Chentsova N. A., Saprykina Z. V., Bownes M., Rauschenbach I. Y. Effects of dopamine on juvenile hormone metabolism and fitness in *Drosophila virilis*. *Journal of insect physiology*, 2005. V. 51(9). P. 959–968. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.04.010>
37. Huang X., Warren J. T., Gilbert L. I. New players in the regulation of ecdysone biosynthesis. *J. Genet. Genomics*. 2008. V. 35, 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(08\)60001-6](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60001-6)
38. Imura E., Shimada-Niwa Y., Nishimura T., Hückesfeld S., Schlegel P., Ohhara Y., et al. The Corazonin-PTTH neuronal axis controls systemic body growth by regulating basal ecdysteroid biosynthesis in *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* 2020. V. 30. 2156.e–2165.e. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.03.050>
39. Jindra M., Palli S. R., Riddiford L. M. The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annu. Rev. Entomol.* 2013. V. 58, P. 181–204.
40. Kaun K.R., Devineni A.V., Heberlein U. *Drosophila melanogaster* as a model to study drug addiction. *Hum Genet.* 2012. V. 131, P. 959–975. <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1146-6>
41. Kawakami A., Kataoka H., Oka T., Mizoguchi A., Kimura-Kawakami M., Adachi T., et al. Molecular cloning of the *Bombyx mori* prothoracicotrophic hormone. *Science*. 1990. V. 247, 1333–1335. <https://doi.org/10.1126/science.2315701>
42. Kayukawa T., Nagamine K., Ito Y., Nishita Y., Ishikawa Y., Shinoda T. *Krüppel* homolog 1 inhibits insect metamorphosis via direct transcriptional repression of Broad-Complex, a pupal specifier gene. *J. Biol. Chem.* 2016. V. 291(4). P. 1751–1762. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.686121>
43. King I., Tsai L. T., Pflanz R., Voigt A., Lee S., Jackle H., et al. *Drosophila* tao controls mushroom body development and ethanol-stimulated behavior through par-1. *J Neurosci Off J Soc Neurosci*. 2011. V. 31(3). P. 1139–1148.
44. Larkins B. A., Dilkes B. P., Dante R. A., Coelho C. M., Woo Y., Liu Y. Investigating hows and whys of DNA endoreduplication. *J Exp Bot.* 2001. V. 52. P. 183–194. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.355.183>
45. Lessells C. M. Neuroendocrine control of life histories: what do we need to know to understand the evolution of phenotypic plasticity? *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2008. V. 363, P. 1589–1598. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0008>
46. Leitch A.R., Leitch I.J. Genome evolution: On the nature of trade-offs with polyploidy and endopolyploidy. *Curr. Biol.* 2022. V. 32(18). P. 952–954. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.08.012>
47. Li T.R., White, K.P. Tissue-specific gene expression and ecdysone-regulated genomic networks in *Drosophila*. *Dev. Cell*. 2003. V. 5. P. 59–72. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00192-8](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00192-8)
48. Lightman S. L., Conway-Campbell B. L. The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration. *Nat. Rev. Neurosci.* 2010. V. 11, P. 710–718. <https://doi.org/10.1038/nrn2914>
49. Liu Z., Huang X. Lipid metabolism in *Drosophila*: development and disease. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. 2013. V. 45, I. 1. P. 44–50. <https://doi.org/10.1093/abbs/gms105>
50. Losick V. P., Fox D. T., Spradling A. C. Polyploidization and cell fusion contribute to wound healing in the adult *Drosophila* epithelium. *Curr Biol.* 2013. V. 23. P. 2224–2232. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.029>
51. Marguerat S., Bähler J. Coordinating genome expression with cell size. *Trends in Genetics*. 2012. V. 28. P. 560–565. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.07.003>
52. McBrayer Z., Ono H., Shimell M.J., Parvy J.-P., Beckstead R. B., Warren J. T., C. S. Thummel, C. Dauphin-Villemant, L. I. Gilbert, M.B. O'Connor. Prothoracicotrophic hormone regulates developmental timing

- and body size in *Drosophila*. *Developmental Cel.*, 2007, V. 13, I.6. P. 857-871. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.11.003>
53. Mehrotra S., Maqbool S.B., Kolpakas A., Murnen K., Calvi B.R. Endocycling cells do not apoptose in response to DNA rereplication genotoxic stress. *Genes Dev.* 2008. V. 22. P. 3158–3171. <https://doi.org/10.1101/gad.1710208>
54. Mirth, C. K., Tang, H. Y., Makohon-Moore, S. C., Salhadar, S., Gokhale, R. H., Warner, R. D., Koyama, T., Riddiford, L. M., & Shingleton, A. W. Juvenile hormone regulates body size and perturbs insulin signaling in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2014. V. 111(19), P. 7018–7023. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313058111>
55. Mizoguchi A., Dedos S. G., Fugo H., Kataoka H. Basic pattern of fluctuation in hemolymph PTTH titers during larval-pupal and pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 2002. V. 127. P. 181–189. [https://doi.org/10.1016/s0016-6480\(02\)00043-6](https://doi.org/10.1016/s0016-6480(02)00043-6)
56. Morris M., Shaw A., Lambert M., Perry H. H., Lowenstein E., Valenzuela D., Velazquez-Ulloa N.A. Developmental nicotine exposure affects larval brain size and the adult dopaminergic system of *Drosophila melanogaster*. *BMC Developmental Biology*. 2018. V. 18. 13 <https://doi.org/10.1186/s12861-018-0172-6>
57. Nässel D. R., Zandawala M. Hormonal axes in *Drosophila*: regulation of hormone release and multiplicity of actions. *Cell and tissue research*. 2020. V. 382(2). P. 233–266. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03264-z>
58. Nesterkina M., Bilokon S., Alieksieieva T., Chubyk I., Kravchenko I. The influence of monoterpenoids and phenol derivatives on *Drosophila melanogaster* viability. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 2018. V. 21(3). P. 793-796. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.06.004>
59. Nesterkina M., Bilokon S., Alieksieieva T., Chebotar S., Kravchenko I. Toxic effect and genotoxicity of carvacrol ethers in *Drosophila melanogaster*. *Mutation research*. 2020. V. 821. 111713. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2020.111713>
60. Noguchi H., Hayakawa Y. Role of dopamine at the onset of pupal diapause in the cabbage armyworm *Mamestra brassicae*. *FEBS Lett.* 1997. V. 413, P. 157–161. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00848-x](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00848-x)
61. Omelchenko N., Roy P., Balcita-Pedicino J.J., Poloyac S., Sesack S.R. Impact of prenatal nicotine on the structure of midbrain dopamine regions in the rat. *Brain Struct Funct.* 2016. V. 221(4). P. 1939–53. <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1014-y>
62. Oncken C., Ricci K.A., Kuo C.L., Dornelas E., Kranzler H.R., Sankey H.Z. Correlates of electronic cigarettes use before and during pregnancy. *Nicotine Tob Res.* 2017. V. 19(5). P. 585-590. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw225>
63. Pauly J.R., Sparks J.A., Hauser K.F., Pauly T.H. *In utero* nicotine exposure causes persistent, gender-dependant changes in locomotor activity and sensitivity to nicotine in C57Bl/6 mice. *Int J Dev Neurosci.* 2004. V. 22(5-6). P. 329-37. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2004.05.009>
64. Rauschenbach I. Y., Chentsova N. A., Alekseev A. A., Gruntenko N. E., Adonyeva N. V., Karpova E. K., Komarova T. N., Vasiliev V. G., Bownes M. Dopamine and octopamine regulate 20-hydroxyecdysone level *in vivo* in *Drosophila*. *Archives of insect biochemistry and physiology*. 2007. V. 65(2), P. 95–102. <https://doi.org/10.1002/arch.20183>
65. Ren D., Song J., Ni M., Kang L., Guo W. Regulatory mechanisms of cell polyploidy in insects. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 2020. V. 8. P. 361 <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00361>
66. Ren J., Sun J., Zhang Y., Liu T., Ren Q., Li Y., Guo A. Down-regulation of Decapping Protein 2 mediates chronic nicotine exposure-induced locomotor hyperactivity in *Drosophila*. *PloS One*. 2012. V. 7(12): e52521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052521>
67. Rewitz, K. F., Yamanaka, N., Gilbert, L. I., & O'Connor, M. B. The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis. *Science*, 2009. V. 326 (5958), 1403–1405. <https://doi.org/10.1126/science.1176450>
68. Rimal S., Lee Y. Molecular sensor of nicotine in taste of *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*. 2019. V. 111. 103178. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2019.103178>
69. Rodman T. C. DNA replication in salivary gland nuclei of *Drosophila melanogaster* at successive larval and prepupal stages. *Genetics*. 1967. V. 55. P. 375–386. <https://doi.org/10.1093/genetics/55.3.375>
70. Rockwell A.L., Beaver I., Hongay C.F. A direct and simple method to assess *Drosophila melanogaster*'s viability from embryo to adult. *J Vis Exp*. 2019. V. 27;(150). <https://doi.org/10.3791/59996>
71. Rothenfluh A, Threlkeld R.J., Bainton R.J., Tsai L.T., Lasek A.W., Heberlein U. Distinct behavioral responses to ethanol are regulated by alternate RhoGAP18B isoforms. *Cell*. 2006. V. 127(1). P. 199-211. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.010>
72. Roy T. S., Seidler F. J., Slotkin T. A. Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2002. V. 300, I.1, 124 – 133. <https://doi.org/10.1124/jpet.300.1.124>

73. Sanchez-Díaz I., Rosales-Bravo F., Reyes-Taboada J. L., Covarrubias A. A., Narvaez-Padilla V., Reynaud E. The *esg* gene is involved in nicotine sensitivity in *Drosophila melanogaster*. *Plos One*. 2015. 10(7), e0133956 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133956>
74. Santiago S.E, Huffman K.J. Postnatal effects of prenatal nicotine exposure on body weight, brain size and cortical connectivity in mice. *Neurosci Res*. 2012. 73(4) 282-91. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2012.05.005>
75. Shakina L.A., Strashnyuk V.Yu. Genetic, molecular, and humoral endocycle-regulating mechanisms. *Russ J Genet*. 2011. V. 47. P. 1151–1160.
76. Shcherbata HR, Althausen C, Findley SD, Ruohola-Baker H. The mitotic-to-endocycle switch in *Drosophila* follicle cells is executed by Notch-dependent regulation of G1/S, G2/M and M/G1 cell-cycle transitions. *Development*. 2004. V. 131(13). P.3169-81. <https://doi.org/10.1242/dev.01172>
77. Shimell M., Pan X., Martin F.A., Ghosh A.C., Leopold P., O'Connor M.B., Romero N.M. Prothoracicotropic hormone modulates environmental adaptive plasticity through the control of developmental timing. *Development* (2018). 145 (6). dev159699. <https://doi.org/10.1242/dev.159699>
78. Skorobagatko D. A., Mazilov A. A., Strashnyuk V. Y. Endoreduplication in *Drosophila melanogaster* progeny after exposure to acute γ -irradiation. *Radiat Environ Biophys*. 2020. V. 59. P. 211–220. <https://doi.org/10.1007/s00411-019-00828-8>
79. Slotkin T. A. Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2004. V. 198(2). P. 132–151. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.06.001>
80. Smith A.M., Dwoskin L.P., Pauly J.R. Early exposure to nicotine during critical periods of brain development: Mechanisms and consequences. *J Pediatr Biochem*. 2010. V. (2). P. 125–141. <https://doi.org/10.3233/JPB-2010-0012>
81. Smykal V., Daimon T., Kayukawa T., Takaki K., Shinoda T., Jindra M. Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose. *Dev. Biol*. 2014. V. 390. P. 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.03.006>
82. Strashnyuk V. Yu., Al-Hamed S., Nepeivoda S.N., Shakhbazov V.G. (1997) Cytogenetic and cytobiophysical investigation of mechanisms of temperature adaptation and heterosis in *Drosophila melanogaster* Meig. *Genetika*, V.33(6). P. 793–799
83. Strashnyuk V.Y., Shakina L.A. & Skorobagatko D.A. Variability of polyteny of giant chromosomes in *Drosophila melanogaster* salivary glands. *Genetica*. 2023. V. 151, P. 75–86. <https://doi.org/10.1007/s10709-022-00168-4>
84. Strashnyuk V., Vakulenko E., Koptevtsova Y. Seasonal variation in endoreduplication and polyteny in the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): How does it contribute to adaptation? *EJE*. 2025. V. 122, Article 1-10. <https://doi.org/10.14411/eje.2025.001>
85. Texada M. J., Lassen M., Pedersen L. H., Koyama T., Malita A., Rewitz K. . Insulin signaling couples growth and early maturation to cholesterol intake in *Drosophila*. *Current Biology*, V. 32, I. 7, P. 1548 - 1562.e6 <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.02.021>
86. Thummel C. S., Chory J. Steroid signaling in plants and insects – common themes, different pathways. *Genes Dev*. 2002. 169240. P. 3113-3129. <https://doi.org/10.1101/gad.1042102>
87. Truman J. W., Riddiford L. M. Physiology of insect rhythms. 3. The temporal organization of the endocrine events underlying pupation of the tobacco hornworm. *J. Exp. Biol*. 1974. V. 60(2). P. 371–382. <https://doi.org/10.1242/jeb.60.2.371>
88. Truman J. W., Riddiford L. M. *Drosophila* postembryonic nervous system development: a model for the endocrine control of development. *Genetics*. 2023. V. 2;223(3). <https://doi.org/10.1093/genetics/iyac184>
89. Velazquez-Ulloa N. A. A *Drosophila* model for developmental nicotine exposure. *PloS one*. 2017. V. 12(5), e0177710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177710>
90. Wagner N. J., Camerota M., Propper C.. Prevalence and perceptions of electronic cigarette use during pregnancy. *Matern Child Health J*. 2017. V. 21(8). P.1655-1661. <https://doi.org/10.1007/s10995-016-2257-9>
91. Wilson T. G. The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. *Journal of Insect Physiology*. 2004. V. 50, I. 2–3. P. 111-121. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2003.12.004>
92. Wu Z., Guo W., Yang L., He Q., Zhou S. Juvenile hormone promotes locust fat body cell polyploidization and vitellogenesis by activating the transcription of Cdk6 and E2f1. *Insect Biochem. Mol. Biol*. 2018. V. 102, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2018.09.002>
93. Xiang J., Bandura J., Zhang P., Jin Y., Reuter H., Edgar B.A. EGFR-dependent TOR-independent endocycles support *Drosophila* gut epithelial regeneration. *Nat Commun*. 2017. V. 8. P. 1–13. <https://doi.org/10.1038/ncomms15125>

94. Yamamoto, S., Jaiswal, M., Charnig, W.-L. et al. A *Drosophila* genetic resource of mutants to study mechanisms underlying human genetic diseases. *Cell*. 2014. V. 159(1). P. 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.002>
95. Yamanaka N., Rewitz K. F., O'Connor M. B. Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. *Annu. Rev. Entomol.* 2013. V. 58. P. 497–516. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153608>
96. Yamazaki T. Measurement of fitness and its components in six laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1984. V. 108. P. 201–211. <https://doi.org/10.1093/genetics/108.1.201>
97. Zhang Y, Guo J, Guo A, Li Y. Nicotine-induced acute hyperactivity is mediated by dopaminergic system in a sexually dimorphic manner. *Neuroscience*. 2016. V. 332. P. 149–59. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.043>
98. Zhang, X., Li, S., & Liu, S. Juvenile hormone studies in *Drosophila melanogaster*. *Frontiers in physiology*. 2022. V. 12, 785320. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.785320>
99. Zielke N., Kim K.J., Tran V., Shibutani S.T., Bravo M.J., Nagarajan S., van Straaten M., Woods B., von Dassow G., Rottig C., Lehner C.F., Grewal S.S., Duronio R.J., Edgar B.A. Control of *Drosophila* endocycles by E2F and CRL4CDT2. *Nature*. 2011. V. 480. P. 123–127.

С. В. Білоконь, Т. Г. Алексєєва, В. О. Сачалко

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, кафедра молекулярної біології, біохімії та генетики, вул. Змієнка Всеволода, 2, м. Одеса, 65082, Україна, e-mail: s.v.belokon@onu.edu.ua

ОНТОГЕНЕЗ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ЯК МІШЕНЬ НІКОТИНОВОЇ ТОКСИЧНОСТІ. ПОВІДОМЛЕННЯ І

Резюме

Проблема. Незважаючи на відомі ризики, нікотин – як у вигляді традиційних сигарет, так і з використанням інших способів вживання – є широко вживаним у світі, у тому числі і жінками під час вагітності. Велика кількість досліджень присвячена механізмам впливу нікотину на різні аспекти здоров'я населення, однак нікотинові ефекти у ранньому онтогенезі залишаються недостатньо вивченими. Попри те, що *Drosophila melanogaster* активно використовується як модель для вивчення дії нікотину, більшість досліджень зосереджені на ефектах у дорослих особин – поведінкових змінах, активації nAChR та впливі на дофамінергічну систему. Натомість залишається мало вивченим вплив нікотину на ранні етапи розвитку, особливо на личинкову стадію, що характеризується активним ростом, метаболізмом і гормональною регуляцією. Личинка, як активна живильна стадія у онтогенезі дрозофіли, потенційно є головною мішенню для токсикантів, які потрапляють через шлунково-кишковий тракт. Вплив нікотину саме на ранні стадії онтогенезу *Drosophila*, зокрема на личинок, є вивченим фрагментарно, хоча і є відомості про порушення нейроендокринної координації метаморфозу. Крім того, на клітинному рівні розвиток личинки супроводжується явищем політенізації, що залежить як від гормонального балансу, так і від дії зовнішніх чинників, включаючи токсиканти. Однак роль нікотину у зміні патернів політенізації, що може виступати чутливим індикатором стресу та метаболічної адаптації, досі лишається практично не дослідженою. Таким чином, вивчення ефектів перорального надходження нікотину в онтогенезі дрозофіли є важливим як для розуміння фунда-

ментальних механізмів дії цієї речовини, так і для екстраполяції даних на інші біологічні об'єкти.

Мета. Оцінити вплив нікотину з нікобустера на онтогенез *Drosophila melanogaster*, включно з темпами розвитку, плодючістю, виживаністю та ступенем політенізації клітин слинних залоз на личинковій стадії.

Методика.

Мух *Drosophila melanogaster* дикого типу лінії Canton-S вирощували на стандартному живильному середовищі з додаванням комерційного нікобустера, призначеного для електронних сигарет з концентраціями нікотину 0,1, 0,2 та 0,3 мг/мл, а також на контрольному середовищі без нікотину. У дослідних і контрольному варіантах визначали тривалість розвитку (LT_{50}), репродуктивну здатність, тривалість життя і постембріональну загибель нащадків. Клітинну відповідь на нікотинове навантаження досліджували на моделі політенних хромосом слинних залоз личинок третього віку, визначаючи частоту стривальності ядер з різним ступенем політенізації та показник середньої політенії. Статистичний аналіз включав t-критерій Стюдента, критерії Пірсона і Краскела-Уоліса для виявлення достовірних відмінностей між варіантами.

Основні результати.

Нікотин з рідин для електронних сигарет викликає дозозалежну затримку онтогенезу *Drosophila melanogaster*, що проявлюється на всіх стадіях розвитку – від ембріональної до імаго. При мінімальній концентрації (0,1 мг/мл) фіксували уповільнення метаморфозу, а у варіантах з 0,2 та 0,3 мг/мл спостерігали істотне зменшення кількості лялечок, зростання часу їх появи та суттєве зниження виживаності личинок. Встановлені зменшення загальної кількості імаго у 4–5 разів і рівень постембріональної загибелі до 40%, що свідчить про сильну токсичність нікотину для преімагінальних стадій. Разом із цим, незважаючи на загальне пригнічення життєвих функцій, було виявлено підвищення ступеня політенізації клітин слинних залоз личинок, вирощених на нікотин-вмісному середовищі. Найвищий рівень політенії було зафіксовано при концентрації 0,2 мг/мл, що супроводжувалося збільшенням долі клітин, які досягли 9–10 циклів ендоредуплікації. Цей ефект може відображати активацію компенсаторних клітинних механізмів у відповідь на токсичне навантаження, зокрема за участі гормональних регуляторів, таких як ювенільний гормон і екдизон.

Висновки. Пероральна експозиція нікобустера викликає дозозалежну затримку розвитку, зниження плодючості та підвищення постембріональної смертності у *D. melanogaster*. Нікотин активує компенсаторні механізми у вигляді підвищення ступеня політенізації, збільшуючи геномну копійність ядер клітин слинних залоз, що може бути адаптивною відповіддю на токсичний стрес.

Ключові слова: *Drosophila melanogaster*, нікобустер, нікотин, розвиток, політенні хромосоми, плодючість, фітнес, токсичний стрес

S. V. Bilokon, T. G. Aliksieieva, V. O. Sachalko

Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Molecular Biology, Biochemistry and Genetics, 2 Zmiiienka Vsevoloda St, Odesa 65082, Ukraine, e-mail: s.v.belokon@onu.edu.ua

ONTOGENESIS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER* AS A TARGET OF NICOTINE TOXICITY. PART I

Summary

Introduction. Despite the well-documented risks, nicotine continues to be widely used globally, both through traditional cigarettes and alternative delivery methods, including among pregnant women. Although many studies have addressed the mechanisms of nicotine's impact on human health, its effects during early ontogenesis remain poorly understood. While *Drosophila melanogaster* is extensively used as a model to study nicotine exposure, most research has focused on adult flies: examining behavioral changes, activation of nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs), and effects on the dopaminergic system. In contrast, the impact of nicotine on early developmental stages, particularly the larval stage, which is marked by intensive growth, metabolism, and endocrine regulation, has received much less attention. The larval stage, being the main feeding phase of the *Drosophila* life cycle, may be especially vulnerable to toxicants ingested via the gastrointestinal tract. Although some evidence suggests that nicotine disrupts neuroendocrine coordination of metamorphosis, its effects on larvae remain fragmented. At the cellular level, larval development is accompanied by polytenization, a process influenced by both hormonal balance and environmental factors, including toxicants. However, the role of nicotine in modulating polytenization patterns (potentially a sensitive indicator of stress and metabolic adaptation) has not yet been adequately explored. Therefore, investigating the effects of oral nicotine exposure during *Drosophila* development is essential for understanding its fundamental mechanisms of action and for extrapolating these findings to other biological systems.

Aim. To assess the impact of nicotine derived from a commercial nicotine booster (nicobooster) on *Drosophila melanogaster* development, including developmental timing, fertility, survival, and the degree of polytenization in salivary gland cells at the larval stage.

Methods. Wild-type *Drosophila melanogaster* (Canton-S strain) were reared on standard culture medium supplemented with a commercial nicotine booster designed for e-cigarettes at concentrations of 0.1, 0.2, and 0.3 mg/mL. A control group was reared on nicotine-free medium. Across experimental and control groups, the following parameters were measured: developmental duration (LT₅₀), reproductive capacity, adult lifespan, and post-embryonic mortality of offspring. Cellular responses to nicotine exposure were analyzed using the model of polytene chromosomes in third-instar larval salivary glands. Nuclear ploidy was assessed based on the frequency distribution of polytenization degrees and the mean polyteny index. Statistical analyses included Student's *t*-test, Pearson's chi-squared test, and Kruskal–Wallis test to determine significant differences among treatment groups.

Results. Nicotine from e-cigarette liquids caused a dose-dependent delay in *Drosophila melanogaster* ontogenesis, evident across all developmental stages, from embryo to imago. At the lowest concentration (0.1 mg/mL), a delay in metamorphosis was observed, while higher concentrations (0.2 and 0.3 mg/mL) led to a significant reduction in the number of pupae, increased time to pupation,

and decreased larval survival. The total number of adult flies was reduced 4–5-fold, with post-embryonic mortality reaching up to 40%, indicating substantial toxicity of nicotine for pre-imaginal stages. Interestingly, despite overall suppression of vital functions, an increase in the degree of polytenization was observed in the salivary gland cells of larvae reared on nicotine-containing medium. The highest polyteny levels occurred at 0.2 mg/mL, accompanied by an increased proportion of nuclei undergoing 9–10 endoreduplication cycles. This response may reflect the activation of compensatory cellular mechanisms under toxic stress, potentially mediated by endocrine regulators such as juvenile hormone and ecdysone.

Conclusions. Oral exposure to nicotine boosters induces a dose-dependent developmental delay, reduced fertility, and increased post-embryonic mortality in *D. melanogaster*. Nicotine triggers compensatory mechanisms such as enhanced polytenization, increasing genomic copy number in salivary gland cells, which may represent an adaptive response to toxic stress.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, nicobooster, nicotine, development, polytene chromosomes, fertility, fitness, toxic stress

References

1. Aliksieieva, T.G., Sheren, A. V. & Bilokon, S. V. (2020). Otsinka vplyvu kharchovykh barvnykiv na *Drosophila melanogaster* Meigh [Assessment of influence of food dyes on *Drosophila melanogaster* Meigh]. *Odesa National University Herald. Biology*, 25(1(46)), 55–66. [https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1\(46\).205811](https://doi.org/10.18524/2077-1746.2020.1(46).205811) [in Ukrainian].
2. Atramentova, L. A., & Utevska, O. M. (2007). Statystychni metody v biolohii: Pidruchnyk. [Statistical Methods in Biology: Textbook] Kh.: KhNU imeni V. N. Karazina, 2007. 288s. [in Ukrainian].
3. Aliksieieva, T.G., & Bilokon S. V. Politenni khromosomy *Drosophila melanogaster* : metod. vkazivky do velykoho spets. praktykumu [Polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*: methodological guidelines for the Large Special Practicum] Odesa: Odesa I. I. Mechnikov National University. 58 pp. [in Ukrainian].
4. Skorobagatko, D. A., Strashnyuk, V. Yu., & Mazilov, A. A. (2015). Komponenty prysposoblenosti v potomstve *Drosophila melanogaster* Meig. posle ostroho γ -oblucheniya [Fitness components in the offsprings of *Drosophila melanogaster* Meig. after acute γ -irradiation]. *Factors in Experimental Evolution of Organisms*, T. 16. C. 78-82. [in Russian].
5. Almeida Machado Costa, C., Wang, X. F., Ellsworth, C., & Deng, W. M. (2022). Polyploidy in development and tumor models in *Drosophila*. *Seminars in cancer biology*, 81, 106–118. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2021.09.011>
6. Aizono, Y., Endo, Y., Sattelle, D. B., and Shirai, Y. (1997). Prothoracicotrophic hormone-producing neurosecretory cells in the silkworm. *Bombyx mori*, express a muscarinic acetylcholine receptor. *Brain Res.* 763, 131–136. doi: 10. 1016/s0006-8993(97)00496-4
7. Bailey, E. C., Kobielski, S., Park, J., & Losick, V. P. (2021). Polyploidy in Tissue Repair and Regeneration. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 13(10), a040881. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a040881>
8. Bainton, R. J., Tsai, L. T., Singh, C. M., Moore, M. S., Neckameyer, W. S., & Heberlein, U. (2000). Dopamine modulates acute responses to cocaine, nicotine and ethanol in *Drosophila*. *Current biology : CB*, 10(4), 187–194. [https://doi.org/10.1016/s0960-9822\(00\)00336-5](https://doi.org/10.1016/s0960-9822(00)00336-5)
9. Baumann, A.A., Texada, M.J., Chen, H.M., Etheredge J. N., Miller D. L., Picard S., Warner R., Truman J. W. & Riddiford L. M. (2017). Genetic tools to study juvenile hormone action in *Drosophila*. *Sci Rep* 7, 2132 <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02264-4>
10. Beckstead, R. B., Lam, G., & Thummel, C. S. (2007). Specific transcriptional responses to juvenile hormone and ecdysone in *Drosophila*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 37(6), 570–578. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2007.03.001>
11. Britton, J. S., & Edgar, B. A. (1998). Environmental control of the cell cycle in *Drosophila*: nutrition activates mitotic and endoreplicative cells by distinct mechanisms. *Development (Cambridge, England)*, 125(11), 2149–2158. <https://doi.org/10.1242/dev.125.11.2149>
12. Cai, M. J., Liu, W., Pei, X. Y., Li, X. R., He, H. J., Wang, J. X., & Zhao, X. F. (2014). Juvenile hormone prevents 20-hydroxyecdysone-induced metamorphosis by regulating the phosphorylation of a newly identified

- broad protein. *The Journal of biological chemistry*, 289(38), 26630–26641. <https://doi.org/10.1074/jbc.M114.581876>
13. Celniker, S. E., Dillon, L. A., Gerstein, M. B., Gunsalus, K. C., Henikoff, S., Karpen, G. H., Kellis, M., Lai, E. C., Lieb, J. D., MacAlpine, D. M., Micklem, G., Piano, F., Snyder, M., Stein, L., White, K. P., Waterston, R. H., & modENCODE Consortium (2009). Unlocking the secrets of the genome. *Nature*, 459(7249), 927–930. <https://doi.org/10.1038/459927a>
14. Chien, S., Reiter, L. T., Bier, E., & Gribskov, M. (2002). Homophila: human disease gene cognates in *Drosophila*. *Nucleic acids research*, 30(1), 149–151. <https://doi.org/10.1093/nar/30.1.149>
15. Chintapalli, V. R., Wang, J., & Dow, J. A. (2007). Using FlyAtlas to identify better *Drosophila melanogaster* models of human disease. *Nature genetics*, 39(6), 715–720. <https://doi.org/10.1038/ng2049>
16. Cornelius, M. D., & Day, N. L. (2009). Developmental consequences of prenatal tobacco exposure. *Current opinion in neurology*, 22(2), 121–125. <https://doi.org/10.1097/WCO.0b013e328326f6dc>
17. Deng, W. M., Althausen, C., & Ruohola-Baker, H. (2001). Notch-Delta signaling induces a transition from mitotic cell cycle to endocycle in *Drosophila* follicle cells. *Development (Cambridge, England)*, 128(23), 4737–4746. <https://doi.org/10.1242/dev.128.23.4737>
18. Denver, R. J. (1997). Environmental stress as a developmental cue: corticotropin releasing hormone is a proximate mediator of adaptive phenotypic plasticity in amphibian metamorphosis. *Horm. Behav.* 31, 169–179. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1997.1383>
19. Deveci, D., Martin, F. A., Leopold, P., & Romero, N. M. (2019). AstA signaling functions as an evolutionary conserved mechanism timing juvenile to adult transition. *Curr. Biol.* 29, 813.e–822.e. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.053>
20. Dubrovsky, E. B. (2005). Hormonal cross talk in insect development. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, 16(1), 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2004.11.003>
21. Dupuis, J., Louis, T., Gauthier, M., & Raymond, V. (2012). Insights from honeybee (*Apis mellifera*) and fly (*Drosophila melanogaster*) nicotinic acetylcholine receptors: from genes to behavioral functions. *Neuroscience and biobehavioral reviews*, 36(6), 1553–1564. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2012.04.003>
22. Dyka, L. D., Shakina, L. A., Strashnyuk, V. Y., & Shchekorbatov, Y. G. (2016). Effects of 36.6 GHz and static magnetic field on degree of endoreduplication in *Drosophila melanogaster* polytene chromosomes. *International journal of radiation biology*, 92(4), 222–227. <https://doi.org/10.3109/09553002.2016.1137105>
23. Edgar, B. A., & Orr-Weaver, T. L. (2001). Endoreplication cell cycles: more for less. *Cell*, 105(3), 297–306. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(01\)00334-8](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(01)00334-8)
24. Edgar, B. A., Zielke, N., & Gutierrez, C. (2014). Endocycles: a recurrent evolutionary innovation for post-mitotic cell growth. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 15(3), 197–210. <https://doi.org/10.1038/nrm3756>
25. El-Merhie, N., Krüger, A., Uliczka, K., Papenmeier, S., Roeder, T., Rabe, K.F., Wagner, C., Angstmann, H., Krauss-Etschmann, S. (2021). Sex dependent effect of maternal e-nicotine on *F₁ Drosophila* development and airways. *Sci Rep.* <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81607-8>
26. Fayyazuddin, A., Zaheer, M. A., Hiesinger, P. R., & Bellen, H. J. (2006). The nicotinic acetylcholine receptor Dalpha7 is required for an escape behavior in *Drosophila*. *PLoS biology*, 4(3), e63. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0040063>
27. Fráková V., Koprivý L., Pařová M., Kolarčík V., & Mártonfi P. (2021). Evaluation of endopolyploidy patterns in selected *Capsicum* and *Nicotiana* species (*Solanaceae*). *Biologia* 76, 2079–2092 <https://doi.org/10.1007/s11756-021-00704-1>
28. Fox, D. T., & Duronio, R. J. (2013). Endoreplication and polyploidy: insights into development and disease. *Development (Cambridge, England)*, 140(1), 3–12. <https://doi.org/10.1242/dev.080531>
29. Fuenzalida-Urbe, N., Meza, R. C., Hoffmann, H. A., Varas, R., & Campusano, J. M. (2013). nAChR-induced octopamine release mediates the effect of nicotine on a startle response in *Drosophila melanogaster*. *Journal of neurochemistry*, 125(2), 281–290. <https://doi.org/10.1111/jnc.12161>
30. Gilbert, L.I., & Goodman, W. (1981). Chemistry, metabolism, and transport of hormones controlling insect metamorphosis. In: Gilbert, L.I., Frieden, E. (eds) *Metamorphosis*. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-3246-6_5
31. Gotthard, K., & Nylin, S. (1995). Adaptive plasticity and plasticity as an adaptation: a selective review of plasticity in animal morphology and life history. *Oikos* 74, 3–17. <https://doi.org/10.2307/3545669>
32. Gramates, L. S., Marygold, S. J., Santos, G. D., Urbano, J. M., Antonazzo, G., Matthews, B. B., Rey, A. J., Tabone, C. J., Crosby, M. A., Emmert, D. B., Falls, K., Goodman, J. L., Hu, Y., Ponting, L., Schroeder, A. J., Strelets, V. B., Thurmond, J., Zhou, P., & the FlyBase Consortium (2017). FlyBase at 25: looking to the future. *Nucleic acids research*, 45(D1), D663–D671. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw1016>
33. Grauso, M., Reenan, R. A., Culetto, E., & Sattelle, D. B. (2002). Novel putative nicotinic acetylcholine receptor subunit genes, Dalpha5, Dalpha6 and Dalpha7, in *Drosophila melanogaster* identify a new and

- highly conserved target of adenosine deaminase acting on RNA-mediated A-to-I pre-mRNA editing. *Genetics*, 160(4), 1519–1533. <https://doi.org/10.1093/genetics/160.4.1519>
34. Grillo, M., Furriols, M., de Miguel, C., Franch-Marro, X., & Casanova, J. (2012). Conserved and divergent elements in Torso RTK activation in *Drosophila* development. *Sci. Rep.* 2. 762. <https://doi.org/10.1038/srep00762>
 35. Gruntenko, N. E., Karpova, E. K., Adonyeva, N. V., Chentsova, N. A., Faddeeva, N. V., Alekseev, A. A., & Rauschenbach, I. Y. (2005). Juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone and dopamine interaction in *Drosophila* virilis reproduction under normal and nutritional stress conditions. *Journal of insect physiology*. 51(4), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.01.007>
 36. Gruntenko, N. E., Karpova, E. K., Alekseev, A. A., Chentsova, N. A., Saprykina, Z. V., Bownes, M., & Rauschenbach, I. Y. (2005). Effects of dopamine on juvenile hormone metabolism and fitness in *Drosophila* virilis. *Journal of insect physiology*, 51(9), 959–968. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.04.010>
 37. Huang, X., Warren, J. T., & Gilbert, L. I. (2008). New players in the regulation of ecdysone biosynthesis. *Journal of genetics and genomics*. 35(1), 1–10. [https://doi.org/10.1016/S1673-8527\(08\)60001-6](https://doi.org/10.1016/S1673-8527(08)60001-6)
 38. Imura, E., Shimada-Niwa, Y., Nishimura, T., Hückesfeld, S., Schlegel, P., Ohhara, Y., Kondo, S., Tanimoto, H., Cardona, A., Pankratz, M. J., & Niwa, R. (2020). The Corazonin-PTTH neuronal axis controls systemic body growth by regulating basal ecdysteroid biosynthesis in *Drosophila melanogaster*. *Current biology : CB*, 30(11), 2156–2165.e5. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.03.050>
 39. Jindra, M., Palli, S. R., & Riddiford, L. M. (2013). The juvenile hormone signaling pathway in insect development. *Annual review of entomology*, 58, 181–204. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153700>
 40. Kaun, K.R., Devineni, A.V. & Heberlein, U. (2012). *Drosophila melanogaster* as a model to study drug addiction. *Hum Genet.* 131, 959–975 <https://doi.org/10.1007/s00439-012-1146-6>
 41. Kawakami, A., Kataoka, H., Oka, T., Mizoguchi, A., Kimura-Kawakami, M., Adachi, T., Iwami, M., Nagasawa, H., Suzuki, A., & Ishizaki, H. (1990). Molecular cloning of the *Bombyx mori* prothoracicotropic hormone. *Science (New York, N.Y.)*, 247(4948), 1333–1335. <https://doi.org/10.1126/science.2315701>
 42. Kayukawa, T., Nagamine, K., Ito, Y., Nishita, Y., Ishikawa, Y., & Shinoda, T. (2016). Krüppel Homolog 1 Inhibits Insect Metamorphosis via Direct Transcriptional Repression of Broad-Complex, a Pupal Specifier Gene. *The Journal of biological chemistry*, 291(4), 1751–1762. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.686121>
 43. King, I., Tsai, L. T., Pflanz, R., Voigt, A., Lee, S., Jäckle, H., Lu, B., & Heberlein, U. (2011). *Drosophila* tao controls mushroom body development and ethanol-stimulated behavior through par-1. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 31(3), 1139–1148. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4416-10.2011>
 44. Larkins, B. A., Dilkes, B. P., Dante, R. A., Coelho C. M., Woo, Y., & Liu, Y. (2001) Investigating hows and whys of DNA endoreduplication. *J Exp Bot.* 52. 183–194. <https://doi.org/10.1093/jexbot/52.355.183>
 45. Lessells, C. K. (2008). Neuroendocrine control of life histories: what do we need to know to understand the evolution of phenotypic plasticity? *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 363(1497), 1589–1598. <https://doi.org/10.1098/rstb.2007.0008>
 46. Leitch, A.R., & Leitch, I.J. (2022). Genome evolution: On the nature of trade-offs with polyploidy and endopolyploidy. *Curr. Biol.* 32. 952–954. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.08.012>
 47. Li, T. R., & White, K. P. (2003). Tissue-specific gene expression and ecdysone-regulated genomic networks in *Drosophila*. *Developmental cell*. 5(1), 59–72. [https://doi.org/10.1016/s1534-5807\(03\)00192-8](https://doi.org/10.1016/s1534-5807(03)00192-8)
 48. Lightman, S. L., & Conway-Campbell, B. L. (2010). The crucial role of pulsatile activity of the HPA axis for continuous dynamic equilibration. *Nature reviews. Neuroscience*, 11(10), 710–718. <https://doi.org/10.1038/nrn2914>
 49. Liu, Z., & Huang, X. (2013). Lipid metabolism in *Drosophila*: development and disease. *Acta biochimica et biophysica Sinica*, 45(1), 44–50. <https://doi.org/10.1093/abbs/gms105>
 50. Losick, V. P., Fox, D. T., & Spradling, A. C. (2013). Polyploidization and cell fusion contribute to wound healing in the adult *Drosophila* epithelium. *Current biology : CB*, 23(22), 2224–2232. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.09.029>
 51. Marguerat, S., & Bähler, J. (2012). Coordinating genome expression with cell size. *Trends in genetics : TIG*, 28(11), 560–565. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2012.07.003>
 52. McBrayer, Z., Ono, H., Shimell, M., Parvy, J. P., Beckstead, R. B., Warren, J. T., Thummel, C. S., Dauphin-Villemant, C., Gilbert, L. I., & O'Connor, M. B. (2007). Prothoracicotropic hormone regulates developmental timing and body size in *Drosophila*. *Developmental cell*, 13(6), 857–871. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2007.11.003>
 53. Mehrotra, S., Maqbool, S. B., Kolpakas, A., Murnen, K., & Calvi, B. R. (2008). Endocycling cells do not apoptose in response to DNA rereplication genotoxic stress. *Genes & development*, 22(22), 3158–3171. <https://doi.org/10.1101/gad.1710208>

54. Mirth, C. K., Tang, H. Y., Makohon-Moore, S. C., Salhadar, S., Gokhale, R. H., Warner, R. D., Koyama, T., Riddiford, L. M., & Shingleton, A. W. (2014). Juvenile hormone regulates body size and perturbs insulin signaling in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111(19), 7018–7023. <https://doi.org/10.1073/pnas.1313058111>
55. Mizoguchi, A., Dedos, S. G., Fugo, H., & Kataoka, H. (2002). Basic pattern of fluctuation in hemolymph PTTH titers during larval-pupal and pupal-adult development of the silkworm, *Bombyx mori*. *General and comparative endocrinology*, 127(2), 181–189. [https://doi.org/10.1016/s0016-6480\(02\)00043-6](https://doi.org/10.1016/s0016-6480(02)00043-6)
56. Morris, M., Shaw, A., Lambert, M., Perry, H. H., Lowenstein, E., Valenzuela, D., & Velazquez-Ulloa, N. A. (2018). Developmental nicotine exposure affects larval brain size and the adult dopaminergic system of *Drosophila melanogaster*. *BMC developmental biology*, 18(1), 13. <https://doi.org/10.1186/s12861-018-0172-6>
57. Nässel, D. R., & Zandawala, M. (2020). Hormonal axes in *Drosophila*: regulation of hormone release and multiplicity of actions. *Cell and tissue research*, 382(2), 233–266. <https://doi.org/10.1007/s00441-020-03264-z>
58. Nesterkina M., Bilokon S., Aliksieieva T., Chubyk I., & Kravchenko I. (2018). The influence of monoterpenoids and phenol derivatives on *Drosophila melanogaster* viability, *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 21(3), 793–796. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2018.06.004>
59. Nesterkina, M., Bilokon, S., Aliksieieva, T., Chebotar, S., & Kravchenko, I. (2020). Toxic effect and genotoxicity of carvacrol ethers in *Drosophila melanogaster*. *Mutation research*, 821, 111713. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2020.111713>
60. Noguchi, H., & Hayakawa, Y. (1997). Role of dopamine at the onset of pupal diapause in the cabbage armyworm *Mamestra brassicae*. *FEBS letters*, 413(1), 157–161. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00848-x](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00848-x)
61. Omelchenko, N., Roy, P., Balcita-Pedicino, J. J., Poloyac, S., & Sesack, S. R. (2016). Impact of prenatal nicotine on the structure of midbrain dopamine regions in the rat. *Brain structure & function*, 221(4), 1939–1953. <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1014-y>
62. Oncken, C., Ricci, K. A., Kuo, C. L., Dornelas, E., Kranzler, H. R., & Sankey, H. Z. (2017). Correlates of electronic cigarettes use before and during pregnancy. *Nicotine & tobacco research : official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, 19(5), 585–590. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntw225>
63. Pauly, J. R., Sparks, J. A., Hauser, K. F., & Pauly, T. H. (2004). *In utero* nicotine exposure causes persistent, gender-dependant changes in locomotor activity and sensitivity to nicotine in C57Bl/6 mice. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 22(5-6), 329–337. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2004.05.009>
64. Rauschenbach, I. Y., Chentsova, N. A., Alekseev, A. A., Gruntenko, N. E., Adonyeva, N. V., Karpova, E. K., Komarova, T. N., Vasiliev, V. G., & Bownes, M. (2007). Dopamine and octopamine regulate 20-hydroxyecdysone level *in vivo* in *Drosophila*. *Archives of insect biochemistry and physiology*, 65(2), 95–102. <https://doi.org/10.1002/arch.20183>
65. Ren, D., Song, J., Ni, M., Kang, L., & Guo, W. (2020). Regulatory Mechanisms of Cell Polyploidy in Insects. *Frontiers in cell and developmental biology*, 8, 361. <https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00361>
66. Ren, J., Sun, J., Zhang, Y., Liu, T., Ren, Q., Li, Y., & Guo, A. (2012). Down-regulation of Decapping Protein 2 mediates chronic nicotine exposure-induced locomotor hyperactivity in *Drosophila*. *PloS one*, 7(12), e52521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052521>
67. Rewitz, K. F., Yamanaka, N., Gilbert, L. I., & O'Connor, M. B. (2009). The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis. *Science (New York, N.Y.)*, 326(5958), 1403–1405. <https://doi.org/10.1126/science.1176450>
68. Rimal, S., & Lee, Y. (2019). Molecular sensor of nicotine in taste of *Drosophila melanogaster*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 111, 103178. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2019.103178>
69. Rodman, T. C. (1967). DNA replication in salivary gland nuclei of *Drosophila melanogaster* at successive larval and prepupal stages. *Genetics*, 55(3), 375–386. <https://doi.org/10.1093/genetics/55.3.375>
70. Rockwell, A. L., Beaver, I., & Hongay, C. F. (2019). A direct and simple method to assess *Drosophila melanogaster*'s viability from embryo to adult. *Journal of visualized experiments : JoVE*, (150), 10.3791/59996. <https://doi.org/10.3791/59996>
71. Rothenfluh, A., Threlkeld, R. J., Bainton, R. J., Tsai, L. T., Lasek, A. W., & Heberlein, U. (2006). Distinct behavioral responses to ethanol are regulated by alternate RhoGAP18B isoforms. *Cell*, 127(1), 199–211. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.09.010>
72. Roy, T. S., Seidler, F. J., & Slotkin, T. A. (2002). Prenatal nicotine exposure evokes alterations of cell structure in hippocampus and somatosensory cortex. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*, 300(1), 124–133. <https://doi.org/10.1124/jpet.300.1.124>
73. Sanchez-Díaz, I., Rosales-Bravo, F., Reyes-Taboada, J. L., Covarrubias, A. A., Narvaez-Padilla, V., & Reynaud, E. (2015). The *esg* gene is involved in nicotine sensitivity in *Drosophila melanogaster*. *PloS one*, 10(7), e0133956. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133956>

74. Santiago, S. E., & Huffman, K. J. (2012). Postnatal effects of prenatal nicotine exposure on body weight, brain size and cortical connectivity in mice. *Neuroscience research*, 73(4), 282–291. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2012.05.005>
75. Shakina L. A., & Strashnyuk V. Yu. (2011). Genetic, molecular, and humoral endocycle-regulating mechanisms. *Russ J Genet*. 47:1151–1160.
76. Shcherbata, H. R., Althausen, C., Findley, S. D., & Ruohola-Baker, H. (2004). The mitotic-to-endocycle switch in *Drosophila* follicle cells is executed by Notch-dependent regulation of G1/S, G2/M and M/G1 cell-cycle transitions. *Development (Cambridge, England)*, 131(13), 3169–3181. <https://doi.org/10.1242/dev.01172>
77. Shimell, M., Pan, X., Martin, F. A., Ghosh, A. C., Leopold, P., O'Connor, M. B., & Romero, N. M. (2018). Prothoracicotrophic hormone modulates environmental adaptive plasticity through the control of developmental timing. *Development (Cambridge, England)*, 145(6), dev159699. <https://doi.org/10.1242/dev.159699>
78. Skorobagatko, D.A., Mazilov, A.A. & Strashnyuk, V.Y. (2020). Endoreduplication in *Drosophila melanogaster* progeny after exposure to acute γ -irradiation. *Radiat Environ Biophys*. 59, 211–220. <https://doi.org/10.1007/s00411-019-00828-8>
79. Slotkin, T. A. (2004). Cholinergic systems in brain development and disruption by neurotoxicants: nicotine, environmental tobacco smoke, organophosphates. *Toxicology and applied pharmacology*, 198(2), 132–151. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.06.001>
80. Smith, A. M., Dwoskin, L. P., & Pauly, J. R. (2010). Early exposure to nicotine during critical periods of brain development: Mechanisms and consequences. *Journal of pediatric biochemistry*, 1(2), 125–141. <https://doi.org/10.3233/JPB-2010-0012>
81. Smykal, V., Daimon, T., Kayukawa, T., Takaki, K., Shinoda, T., & Jindra, M. (2014). Importance of juvenile hormone signaling arises with competence of insect larvae to metamorphose. *Developmental biology*, 390(2), 221–230. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.03.006>
82. Strashniuk, V. Iu, Al'-Khaled, S., Nepeivoda, S. N., & Shakhbazov, V. G. (1997). Cytogenetic and cytophysical study of temperature adaptation and heterosis mechanisms in *Drosophila melanogaster* Meig. *Genetika*, 33(6), 793–799.
83. Strashnyuk, V. Y., Shakina, L. A., & Skorobagatko, D. A. (2023). Variability of polyteny of giant chromosomes in *Drosophila melanogaster* salivary glands. *Genetica*, 151(1), 75–86. <https://doi.org/10.1007/s10709-022-00168-4>
84. Strashnyuk, V., Vakulenko, E., & Koptevtsova, Y. (2025). Seasonal variation in endoreduplication and polyteny in the fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): How does it contribute to adaptation? *EJE*, 122, 1-10. <https://doi.org/10.14411/eje.2025.001>
85. Texada, M. J., Lassen, M., Pedersen, L. H., Koyama, T., Malita, A., & Rewitz, K. (2022). Insulin signaling couples growth and early maturation to cholesterol intake in *Drosophila*. *Current biology : CB*, 32(7), 1548–1562.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.02.021>
86. Thummel, C. S., & Chory, J. (2002). Steroid signaling in plants and insects--common themes, different pathways. *Genes & development*, 16(24), 3113–3129. <https://doi.org/10.1101/gad.1042102>
87. Truman, J. W., & Riddiford, L. M. (1974). Physiology of insect rhythms. 3. The temporal organization of the endocrine events underlying pupation of the tobacco hornworm. *The Journal of experimental biology*, 60(2), 371–382. <https://doi.org/10.1242/jeb.60.2.371>
88. Truman, J. W., & Riddiford, L. M. (2023). *Drosophila* postembryonic nervous system development: a model for the endocrine control of development. *Genetics*, 223(3), iyac184. <https://doi.org/10.1093/genetics/iyac184>
89. Velazquez-Ulloa, N. A. (2017). A *Drosophila* model for developmental nicotine exposure. *PloS one*, 12(5), e0177710. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177710>
90. Wagner, N. J., Camerota, M., & Propper, C. (2017). Prevalence and Perceptions of Electronic Cigarette Use during Pregnancy. *Maternal and child health journal*, 21(8), 1655–1661. <https://doi.org/10.1007/s10995-016-2257-9>
91. Wilson T. G. (2004). The molecular site of action of juvenile hormone and juvenile hormone insecticides during metamorphosis: how these compounds kill insects. *Journal of insect physiology*, 50(2-3), 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2003.12.004>
92. Wu, Z., Guo, W., Yang, L., He, Q., & Zhou, S. (2018). Juvenile hormone promotes locust fat body cell polyploidization and vitellogenesis by activating the transcription of Cdk6 and E2f1. *Insect biochemistry and molecular biology*, 102, 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2018.09.002>
93. Xiang, J., Bandura, J., Zhang, P., Jin, Y., Reuter, H., & Edgar, B. A. (2017). EGFR-dependent TOR-independent endocycles support *Drosophila* gut epithelial regeneration. *Nature communications*, 8, 15125. <https://doi.org/10.1038/ncomms15125>
94. Yamamoto, S., Jaiswal, M., Charnig, W. L., Gambin, T., Karaca, E., Mirzaa, G., Wiszniewski, W., Sandoval, H., Haelterman, N. A., Xiong, B., Zhang, K., Bayat, V., David, G., Li, T., Chen, K., Gala, U., Harel, T., Pehlivan,

- D., Penney, S., Vissers, L. E. L. M., ... & Bellen, H. J. (2014). A *Drosophila* genetic resource of mutants to study mechanisms underlying human genetic diseases. *Cell*, 159(1), 200–214. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.09.002>
95. Yamanaka, N., Rewitz, K. F., & O'Connor, M. B. (2013). Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. *Annual review of entomology*, 58, 497–516. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120811-153608>
96. Yamazaki T. (1984). Measurement of fitness and its components in six laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 108(1), 201–211. <https://doi.org/10.1093/genetics/108.1.201>
97. Zhang, Y., Guo, J., Guo, A., & Li, Y. (2016). Nicotine-induced acute hyperactivity is mediated by dopaminergic system in a sexually dimorphic manner. *Neuroscience*, 332, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.06.043>
98. Zhang, X., Li, S., & Liu, S. (2022). Juvenile hormone studies in *Drosophila melanogaster*. *Frontiers in physiology*, 12, 785320. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.785320>
99. Zielke, N., Kim, K. J., Tran, V., Shibutani, S. T., Bravo, M. J., Nagarajan, S., van Straaten, M., Woods, B., von Dassow, G., Rottig, C., Lehner, C. F., Grewal, S. S., Duronio, R. J., & Edgar, B. A. (2011). Control of *Drosophila* endocycles by E2F and CRL4(CDT2). *Nature*, 480(7375), 123–127. <https://doi.org/10.1038/nature10579>