



Издатель

ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»
Российская Федерация, г.Петрозаводск, пр.Ленина,33

Научный электронный журнал

ПРИНЦИПЫ ЭКОЛОГИИ

<http://ecopri.ru>

№ 3 (57). Сентябрь, 2025

Главный редактор

А. В. Коросов

Редакционный совет

В. Н. Большаков
А. В. Воронин
Э. В. Ивантер
Н. Н. Немова
Г. С. Розенберг
А. Ф. Титов
Г. С. Антипина
В. В. Вапиров
А. М. Макаров

Редакционная коллегия

Т. О. Волкова
Е. П. Иешко
В. А. Илюха
Н. М. Калинкина
J. P. Kurhinen
А. Ю. Мейгал
J. B. Jakovlev
B. Krasnov
A. Gugotek
В. Н. Якимов
А. В. Сони́на

Службы поддержки

А. Г. Марахтанов
Е. В. Голубев
С. Л. Смирнова
Н. Д. Чернышева
М. Л. Киреева

ISSN 2304-6465

Адрес редакции

185910, Республика Карелия, г.Петрозаводск, пр. Ленина, 33. Каб. 453

E-mail: ecopri@psu.karelia.ru

<http://ecopri.ru>



© ФГБОУ ВО «Петрозаводский государственный университет»



УДК 57.017.6, 57.017.8, 57.04

КОМПЛЕКСНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АДАПТОГЕННОГО И ИНСЕКТИЦИДНОГО ПОТЕНЦИАЛА ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ АРОНИИ МИЧУРИНА (*×SORBARONIA MITSCHURINII*) НА МОДЕЛИ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

ПЛАТОНОВА
Елена Юрьевна

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, Dega37@yandex.ru

ГОЛУБЕВ
Денис Анатольевич

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, denismeatboy@gmail.com

ЗЕМСКАЯ
Надежда Владимировна

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, zemskaya@ib.komisc.ru

ТИМУШЕВА
Наталья Сергеевна

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, uliasheva.n.s@ib.komisc.ru

ПАКШИНА
Наталья Ришатовна

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, pakshina.n.r@ib.komisc.ru

МИХАЙЛОВА
Дарья Владимировна

Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 48, kukutan@ib.komisc.ru

ПАТОВ
Сергей Александрович

кандидат химических наук, Институт химии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167000, Российская Федерация, Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Первомайская, д. 48, ser-patov@yandex.ru

ШАПОШНИКОВ
Михаил Вячеславович

кандидат биологических наук, Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, г. Сыктывкар, ГСП-2, ул. Коммунистическая, 28, shaposhnikov@ib.komisc.ru

МОСКАЛЕВ
Алексей Александрович

доктор биологических наук, Институт долголетия с клиникой реабилитации и превентивной медицины РНЦХ имени академика Б. В. Петровского, 119435, г. Москва, amoskalev@list.ru

Ключевые слова:
экстракт листьев
аронии Мичурина
стрессоустойчивость
растительные
инсектициды
адаптация
Drosophila
melanogaster

Аннотация: Плоды аронии, представленной видами *Aronia melanocarpa* и *×Sorbaronia mitschurinii*, широко распространены по всему миру как источник широкого спектра биологически активных веществ, макро- и микромолекул. Данных об исследовании листьев существует мало, особенно об их возможном токсическом влиянии на жизнеспособность модельных организмов. Мы провели анализ состава экстракта листьев аронии Мичурина, который показал наличие в нем флавоноидов и фенольных соединений, включая галловую кислоту, рутин (рутозид, витамин Р), изокверцетин и кемпферол. Добавление в пищу экстракта листьев на протяжении всей жизни, на 1-2-й и 4-5-й неделях жизни, привело к сокращению продолжительности жизни особей обоих полов *Drosophila melanogaster*. Экстракт листьев не оказал статистически значимого воздействия на функциональную целостность кишечного барьера особей обоих полов плодовых мушек. Также не наблюдалось никаких неблагоприятных эффектов на двигательную активность дрозофил. Исследование показало, что предварительное кормление экстрактом в составе питательной среды привело к 15%-ному увеличению медианного уровня выживаемости самцов в условиях голодания в молодом возрасте и 6%-ному увеличению выживаемости самок в тех же условиях во взрослом возрасте. Однако в условиях гипертермии предварительная обработка экстрактом снизила выживаемость самцов в возрасте 10 суток (на 12 %) и 33 суток (на 20 %), а также снизилась выживаемость самок в возрасте 33 суток (на 12 %). Кроме того, экстракт листьев аронии Мичурина снижал экспрессию генов, связанных с липидным обменом (*lip3*) и инсулиновым сигналингом (*ilp5*) у обоих полов *Drosophila melanogaster*, что может свидетельствовать о влиянии экстракта на энергетический гомеостаз и сигнальный путь инсулина в организме. Дальнейшие исследования биологических эффектов экстракта листьев аронии Мичурина могут способствовать разработке натурального инсектицида, не оказывающего пагубного воздействия на окружающую среду.

© Петрозаводский государственный университет

Получена: 10 июня 2025 года

Подписана к печати: 01 октября 2025 года

Введение

Плодовые растения, являясь ключевым трофическим ресурсом, играют неотъемлемую роль в сложной сети химических взаимодействий и передачи энергии, характеризующей биосферу Земли. Как первичные продуценты, они формируют множество трофических связей в пищевых цепях (Foster, Bhatti, 2006; Krishna, Mohan, 2017; Zhao et al., 2022). При этом их плоды (ягоды) и листья выполняют различные, но взаимодополняющие экологические функции. Ягоды служат высокоэнергетическим кормом для птиц и млекопитающих (Hertel et al., 2016; Hupp et al., 2015; Ripple et al., 2015), а листья – основой питания для множества насекомых и других организмов (Dhaouadi et al., 2023; Hikal et al., 2017). Листья могут содержать эфирные масла, алкалоиды, танины, терпеноиды и другие соединения, которые проявляют репеллентные, инсектицидные и антифидантные свойства. Было показано, что эти соединения активируют обонятельные и другие рецепторы, подавляют развитие насекомых и вызывают бесплодие у

насекомых, питающихся этими растениями (Dhaouadi et al., 2023; Hikal et al., 2017; Rizzo et al., 2020), что является естественным защитным механизмом растений от вредителей. Растения вырабатывают защитные стратегии в процессе эволюции, чтобы выживать в условиях, когда насекомые могут представлять угрозу их целостности и размножению (Hikal et al., 2017). Кроме того, ягоды и листья могут быть источником аттрактантов, привлекающих хищников, питающихся вредителями, что помогает поддерживать равновесие в природе за счет взаимодействия различных компонентов экосистемы (Cantwell-Jones et al., 2022; Hikal et al., 2017).

Плоды и листья растений рода *Aronia* (*Aronia melanocarpa* и *×Sorbaronia mitschurinii*) содержат широкий спектр полифенольных соединений, включая простые фенолы, фенольные кислоты, флавоноиды и антоцианы. Экспериментальные исследования *in vitro* и *in vivo* подтверждают биологическую активность фитохимических компонентов *Aronia* на различных модельных объектах: клеточных культурах, нематодах *Caenorhabditis elegans*, мухах

Drosophila melanogaster и лабораторных крысах *Rattus norvegicus* (Platonova et al., 2021).

Плодовая мушка *Drosophila melanogaster* является подходящей моделью для исследования эффектов экстрактов ягод и листьев аронии (*Aronia melanocarpa*) на состояние организма (Ferlemi, Lamari, 2016; Wang, Lin, 2000). Преимуществом плодовой мушки в исследованиях с использованием фитохимикатов является ее низкая стоимость содержания и короткая продолжительность жизни, кроме того, около 60 % генов плодовой мушки являются ортологами млекопитающих, что предполагает (Platonova et al., 2021) ожидаемый эффект на другие модельные организмы (Lopez-Ortiz et al., 2023; Staats et al., 2018).

Согласно данным проведенного нами систематического анализа литературы, биологические эффекты экстрактов плодов аронии изучены более детально по сравнению с действием экстрактов, полученных из вегетативных органов (стеблей и листьев) этого растения (Platonova et al., 2021).

Листья аронии (*Aronia melanocarpa*) содержат большое количество фенольных кислот, которые могут оказывать инсектицидное действие на плодовых мух (Cvetanović et al., 2018; Kulling, Rawel, 2008; Leri et al., 2020). В то же время содержащиеся в листьях биологически активные соединения, включая полифенолы (такие как фенольные кислоты, флавоноиды, стильбены, лигнаны, танины) (Proshkina et al., 2024) и терпеноиды (Proshkina et al., 2020), могут проявлять геропротекторный потенциал. Краткое описание геропротекторных свойств данных соединений можно найти в базе данных геропротекторов (<http://geroprotectors.org/>) (Moskalev et al., 2015).

Несмотря на это, биологическое действие экстрактов листьев изучено недостаточно, особенно в контексте их антагонистических эффектов – как потенциальных геропротекторов и природных инсектицидов. На основании имеющихся данных мы поставили цель: исследовать баланс между адаптогенными и токсическими свойствами экстракта листьев аронии Мичурина (*×Sorbaronia mitschurinii*), определяющий его потенциал как геропротектора и экоинсектицида в искусственно воссозданной экосистеме – «вторичные метаболиты растений – плодовые мушки».

Материалы

Растительный материал

Сбор растительного материала осуществлялся в летний период (август 2020 г.) в Ботаническом саду (Научная коллекция живых растений, № 507428) при Институте биологии Коми научного центра УрО РАН (Сыктывкар, Россия). Листья подвергались сушке в темном проветриваемом помещении при отсутствии прямого солнечного света, после чего упаковывались в крафт-бумагу для последующего приготовления экстракта.

Методы

Экстракция фенольных компонентов из листьев

Экстрагирование проходило в несколько этапов: измельчение и отбор образцов, обезжиривание сырья, микроволновая экстракция флавоноидов, в результате чего получали этилацетатную фракцию с примесью хлорофилла, для дальнейших исследований. Подробное описание методики экстракции фенольных компонентов из листьев проводилось в соответствии с методикой, ранее опубликованной в работе (Платонова и др., 2025).

Высокоэффективная жидкостная хроматография – масс-спектрометрия (ВЭЖХ – МС)

Образцы экстракта листьев аронии Мичурина анализировали на системе ВЭЖХ Thermo Finnigan Surveyor, оснащенной диодно-матричным детектором (200–600 нм) и масс-селективным детектором (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Детектирование проводили при длине волны 323 нм, скорости потока элюента 1 мл/мин, времени анализа 40 мин в изократическом режиме. В качестве элюента использовали раствор ацетонитрила и 10 % муравьиной кислоты (7:93, об./об.) в воде. Использовали хроматографическую колонку 4 × 250 мм с сорбентом Diasorb-130-C16T (размер частиц 7 мкм). Для пробоподготовки 1 мг экстракта растворяли в 10 мл деионизированной воды, после чего наносили на подготовленный картридж с сорбентом Hypersep C18. Картриджи промывали 1 мл элюента, затем 10 мл деионизированной воды. Масс-спектры получали на жидкостном хроматографе Thermo Finnigan LCQ Fleet (Thermo Fisher Scientific Inc., США) в сочетании с ионизацией электрораспылением при кинетической энергии 40 эВ. Сое-

динения, выделенные из экстракта в чистом виде, использовали в качестве стандартов для ВЭЖХ-МС, а также для количественного анализа. Структура этих соединений была подтверждена методами ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии, а также молекулярными ионами в МС.

Условия разведения мух

Эксперименты проводили на линии дикого типа *Canton-S D. melanogaster* (#64349, Bloomington, США). Мух выращивали и содержали при температуре 25 °С и относительной влажности 60 % при цикле свет/темнота 12 ч : 12 ч в камере постоянного климата Binder KBF720-ICH (Binder, Германия). Подробное описание методики и состава питательной среды соответствует ранее опубликованной работе (Платонова и др., 2025).

Возраст дрозофил и обработка экстрактом листьев

Процедура кормления дрозофил экстрактом листьев проводилась в соответствии с ранее описанной методикой (Platonova et al., 2022). Использовали 96 % этанольный экстракт листьев аронии Мичурина (SLE) в следующих концентрациях: 0.01, 0.1, 1.0 и 5.0 мг/мл. Контрольная группа получала 96 % этанол. Экстракт добавлялся в пищу дрозофилам в различные периоды жизни: в течение всей жизни имаго, в первые две недели после вылупления (1–2 недели) и в период четвертой – пятой недели жизни имаго (4–5 недель).

Анализ продолжительности жизни

Анализ продолжительности жизни проводился аналогично экспериментам с использованием методики, описанной в предыдущем исследовании (Platonova et al., 2022). Самцов и самок содержали раздельно, 30 особей в пробирке, по 5 пробирок на каждый вариант, по 150 мух на каждую экспериментальную группу. Количество мертвых мух подсчитывали ежедневно, а оставшихся живых мух переносили в пробирки со свежей средой дважды в неделю. На основе полученных данных строили кривые выживаемости и рассчитывали медианную и максимальную продолжительность жизни. Эксперименты проводили в трех биологических повторностях.

Анализ двигательной активности

Двигательную активность количественно оценивали с помощью монитора двигатель-

ной активности (LAM25, TriKinetics Inc., USA) в соответствии с ранее описанной методикой (Platonova et al., 2022). Экспериментальные мухи содержались на питательной среде с SLE в концентрациях 0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл. Кроме того, анализ проводился с использованием различных режимов питания: в течение всей жизни, 1–2-я недели и 4–5-я недели жизни.

Анализ стрессоустойчивости

Перед анализом стрессоустойчивости мухи содержались на среде с добавлением различных концентраций SLE. Мухи подвергались воздействию стресс-факторов в возрасте 10 и 33 суток. Питательная среда и условия содержания дрозофил в экспериментах по изучению устойчивости к неблагоприятным условиям окружающей среды (гипертермия, голодание и окислительный стресс) были ранее описаны в (Platonova et al., 2022). Для оценки устойчивости к стрессу использовали монитор активности дрозофил (DAM2, Trikinetics, США), где индивидуальное содержание особей осуществлялось в стеклянных капиллярах диаметром 5 мм, как указано в предыдущих исследованиях (Platonova et al., 2022). В каждом варианте эксперимента анализировали по 32 особи каждого пола. Все эксперименты проводились в 2–3 повторностях.

Анализ целостности кишечника

Анализ целостности кишечника проводили как в исследовании (Platonova et al., 2022) с использованием теста «Smurf» (Rera et al., 2012). Предварительно мух содержали на питательной среде с добавлением SLE, анализ проводили в возрасте 6 и 8 недель. Контрольные и экспериментальные когорты находились в течение 16 часов на питательной среде, содержащей 2.5 % (масса / объем) пищевого красителя Brilliant Blue FCF (Roha Dychem Ltd., Мумбаи, Индия), после чего были подсчитаны мухи, окрашенные в синий цвет (мухи «смурф») с нарушенной целостностью кишечника. Самцы и недевственные самки были проанализированы отдельно. Эксперимент повторяли дважды, на каждый вариант эксперимента использовали по 70–100 особей в каждой повторности.

Анализ уровня потребления экстракта

Для оценки уровня потребления пищи с добавлением экстрактов листьев в концентрациях 0.01, 0.1, 1.0 и 5.0 мг/мл плодовыми

мушками использовали метод, описанный в статье (Wu et al., 2020). Исследование проводилось в возрасте 15 и 35 суток. Для эксперимента использовали цилиндрические пробирки с отверстиями для циркуляции воздуха, снабженные крышкой с отверстием для установки емкости с питательной средой объемом 70 мкл. В течение 24 часов мухи содержались на питательной среде, подкрашенной 0.5 % красителем бриллиантовый синий FCF (Roha Dychem Ltd., Индия). При этом экскременты мух скапливались на внутренних стенках пробирки. Через сутки питательную среду меняли на среду без красителя и оставляли на ней мух на 3 часа для высвобождения красителя из организма. Через 3 часа мух извлекали из пробирки, отверстия заклеивали скотчем, а экскременты растворяли в 3 мл дистиллированной воды. Затем измеряли оптическую плотность смыва при 629 нм с помощью спектрофотометра Picodrop Pico200 (Picodrop, Великобритания). Количество окрашенных экскрементов мух рассчитывали с помощью стандартной калибровочной кривой, построенной путем серийного разведения эквивалентного количества синего красителя в воде. Для каждого варианта эксперимента использовали 5 цилиндрических пробирок по 10 особей в каждой. Самцов и самок анализировали отдельно.

Количественная ПЦР с обратной транскрипцией

Уровни экспрессии генов определялись с помощью анализа полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Мухи содержались на питательной среде с SLE (5 мг/мл) в течение 14 дней и дважды в неделю переносились во флаконы со свежей средой. Для каждого экспериментального варианта использовали 20 самцов и 10 самок. РНК выделяли с помощью набора Aurum Total RNA Mini (Bio-Rad, США) в соответствии с инструкциями производителя. Концентрацию РНК измеряли с помощью набора Quant-iT RNA Assay Kit (Invitrogen, США) в соответствии с инструкциями производителя. кДНК синтезировали с помощью набора iScript cDNA Synthesis Kit (Bio-Rad, США) из полученного раствора РНК. Реакционную смесь для ПЦР-реакции готовили на основе qPCR mix-HS SYBR (Евроген, Россия) и

праймеров (табл. 1). Полимеразную цепную реакцию проводили с использованием амплификатора CFX96 (Bio-Rad, США) по следующей программе: 1) 95 °C в течение 30 с; 2) 95 °C в течение 10 с; 3) 60 °C в течение 30 с; 4) шаги 2–3 повторяли 40 раз и 5) шаг плавления ДНК.

Экспрессию исследуемых генов рассчитывали относительно экспрессии генов домашнего хозяйства *β-tubulin* и *Rpl32* с помощью программного обеспечения CFX Manager 3.1 (Bio-Rad, США). Эксперименты проводились в трех биологических и трех технических повторях. Для количественной оценки использовали метод дельта-дельта CT (Livak, Schmittgen, 2001).

Статистическая обработка

Для сравнения статистических различий в функциях выживания и медианной продолжительности жизни между контрольной и экспериментальной группами был использован логранговый тест (Harrington, Fleming, 1982) и модифицированный тест Колмогорова – Смирнова соответственно (Fleming et al., 1980). Тест Ванга – Эллисона использовался для оценки различий в возрасте при 90 % смертности (Wang et al., 2004). Для оценки статистической значимости различий в устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды применялся точный критерий Фишера (Gao et al., 2008; Mehta et al., 1984). Для попарного сравнения индексов пищевых предпочтений использовался U-критерий Манна – Уитни (Hart, 2001). Для учета множественных сравнений была применена корректировка Бонферрони (Lee, Lee, 2018). Для сравнения различий в двигательной активности, потреблении пищи и уровнях экспрессии генов между контрольными и экспериментальными мухами использовался дисперсионный анализ (ANOVA) (Williams, 1987). Попарные сравнения post hoc проводились с использованием тестов Тьюки на достоверно значимую разницу (HSD) (Nanda et al., 2021). Статистический анализ данных проводился с использованием TIBCO Statistica, версия 13.3 (TIBCO Software, США), R, версия 2.15.1 (The R Foundation, США), Excel (Microsoft, США) и OASIS 2 (онлайн-приложение для анализа выживаемости 2) (Han et al., 2024).

Таблица 1. Список праймеров для ОТ-ПЦР

е гена	Символ (FlyBase)	Праймер 5'–3' (прямой / обратный)
β -tubulin at 56D	Tubulin	GCAACTCCACTGCCATCC/ CCTGCTCCTCCTCGAACT
Ribosomal protein L32	RpL32	GAAGCGCACCAAGCACTTCATC/ CGCCATTTGTGCGACAGCTTAG
superoxide dismutase 1	Sod1	TGCACGAGTTCGGTGACAACAC/ TCCTTGCCATACGGATTGAAGTGC
superoxide dismutase 2	Sod2	AGCGACACCACCAAGCTGATTC/ ATGTGGCCACCGCCATTGAAAC
Catalase	Cat	CCCAAGAACTACTTTGCTGAGGTG/ AGGAGAACAGACGACCATGCAG
Autophagy-related 1	Atg1	AGACTCTTCCTCGTGCAACTAGC/ GCTTGAGATCACGATGCACAATTC
Autophagy-related 5	Atg5	CTCGTCAAGCTCAACTCCAAGG/ GTTGACCAATCCAGCCAAAGC
Heat shock protein 26	Hsp26	CAACCGCAACGACATTCACTGG/ ACGTCCATGCACACCTGGAATC
Heat shock protein 68	Hsp68	TGGGCACATTCGATCTCACTGG/ TAACGTCGATCTTGGGCACTCC
Insulin-like peptide 5	Ilp5	TGCCTGTCCCAATGGATTCAA/ GCCAAGTGGTCCTCATAATCG
tuberous sclerosis 1 protein hamartin	Tsc1	CAATAAAGCCGCCGTCATGGTG/ TACCACCCACTGCTCCTTGTTT
tuberous sclerosis 2 protein hamartin	Tsc2	ACGCATCGAATTGGCTAGAACG/ TGTTTAGGCCCTCAATTAGCTTCG
mechanistic Target of rapamycin	mTor	TGTCTCGCCCAAAGTATGACG/ CCGCTGCTTGGAAGTAATCACCTG
Heat shock protein 27	Hsp27	ACTGGGTCGTCGTCGTTATTCG/ CGCGCGACGTGACATTTGATTG
Lipase 3	Lip3	ATTGCGGTGAGCGCATTA/ TCAGGATGTAGTTGTCACTGGT
Adipokinetic hormone	Akh	TCCCAAGAGCGAAGTCTCTCA/ CCAGAAAGAGCTGTGCCTGA

Результаты

Состав экстракта листьев аронии Мичурина

В результате проведенного анализа ВЭЖХ были выявлены основные пики на 5.51 мин – галловая кислота, на 13.21 мин – рутин (рутозид, витамин Р), на 24.51 мин – изокверцетин и на 39.65 мин – кемпферол (рис. 1).

Продолжительность жизни

С целью анализа возраст-зависимых эффектов экстракта листьев аронии Мичурина (SLE) было изучено его влияние на продолжительность жизни при трех режимах кормления: постоянном, раннем и позднем. При постоянном режиме кормления экстракт вносили в состав питательной среды, начиная с первого дня после вылупления имаго и до конца жизни (далее: на протяжении всей жизни). При раннем – исключительно в течение первых 2 недель после вылета имаго (далее: 1–2-я неделя жизни). При позднем –

во взрослом возрасте на 4–5-й неделе жизни (далее: 4–5-я неделя жизни).

В результате проведенных экспериментов было показано, что употребление дрозофилами SLE на протяжении всей жизни сокращает медианную и максимальную продолжительность жизни самцов на 9 % и 10 % ($p < 0.05$) при концентрациях 0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл (рис. 2А, Б; табл. 2) соответственно. Аналогичный результат наблюдался у самок *D. melanogaster*: SLE снижал медианную и максимальную продолжительность жизни до 6 % ($p < 0.05$) при концентрациях 0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл (рис. 3А, Б; табл. 2). Добавление SLE в пищу в возрасте 1–2 недель снизило медианную и максимальную продолжительность жизни самцов на 9 % и 7 % ($p < 0.0001$) при концентрациях 0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл (рис. 2В, Г; табл. 3), но не оказало влияния на показатели продолжительности жизни самок (рис. 3В, Г; табл. 3). Добавление SLE в возрасте 4–5 недель в концентрациях 1 и 0.01 мг/мл также снизило медианную и

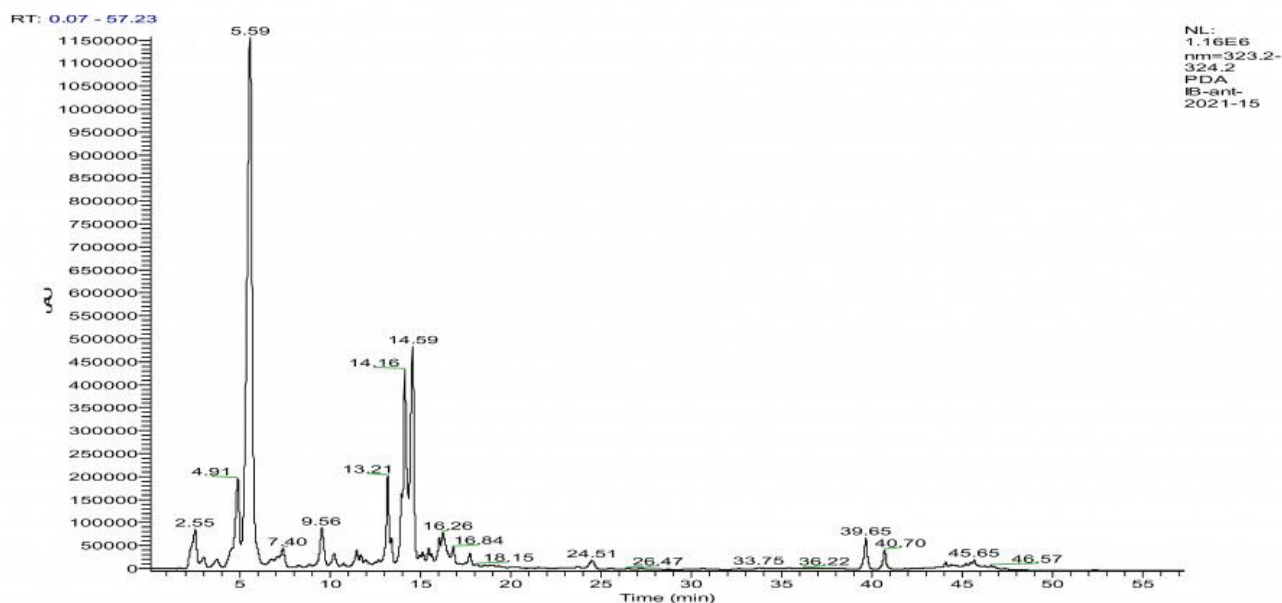


Рис. 1. Результаты высокоэффективной жидкостной хроматографии. 5.59 – галловая кислота; 13.21 – ру-тин (рутозид, витамин P); 24.51 – изокверцетин; 39.65 – кемпферол

Fig. 1. Results of high performance liquid chromatography. 5.59 – gallic acid; 13.21 – rutin (rutoside, vitamin P); 24.51 – isoquercetin; 39.65 – kaempferol

максимальную продолжительность жизни самцов (рис. 2Д, Е; табл. 4), у самок экстракт листьев в концентрации 0.01 мг/мл снизил медианную и максимальную продолжительность жизни (рис. 3Д, Е; табл. 4).

Двигательная активность

Для оценки эффектов SLE на показатели функционального старения мы изучили возрастные изменения двигательной активности у *D. melanogaster* при постоянном (на протяжении всей жизни), раннем (1–2-я неделя жизни) и позднем (4–5-я неделя жизни) режимах кормления экстрактом листьев.

Двухфакторный дисперсионный анализ (возраст × экстракт) выявил статистически значимое влияние ($p < 0.05$) обоих факторов на двигательную активность самцов и самок при обработке SLE на протяжении всей жизни. Апостериорный анализ продемонстрировал полоспецифичные эффекты: у самцов наблюдалось увеличение активности при максимальной концентрации SLE 5 мг/мл, тогда как у самок отмечалось ее снижение при низких концентрациях SLE 0.01–0.1 мг/мл по сравнению с контролем (рис. 4).

При анализе режимов с кратковременным кормлением экстрактом было установлено отсутствие значимого эффекта ($p > 0.05$) SLE на двигательную активность при раннем введении в течение первых двух недель жизни имаго (рис. 4В, Г). Однако при позднем

введении (4–5-я неделя жизни) выявлены достоверные различия ($p < 0.05$): у самцов значимым оказался только возрастной фактор, в то время как у самок влияние оказывали как возраст, так и экстракт (рис. 4Д, Е).

Устойчивость дрозофил к неблагоприятным факторам окружающей среды

На основании результатов исследования влияния экстракта листьев аронии Мичурина на продолжительность жизни для экспериментов по оценке стрессоустойчивости была отобрана концентрация 5 мг/мл. Эта концентрация показала наиболее значительный долгосрочный отрицательный эффект на продолжительность жизни и была использована для проверки нашей гипотезы о том, что SLE может оказывать краткосрочный горметический эффект на устойчивость к стрессу.

Введение SLE в концентрации 5 мг/мл в питательную среду приводило к увеличению медианного времени выживаемости 10-суточных самцов на 15 % ($p < 0.05$), а максимального времени выживаемости – на 11 % ($p < 0.05$) в условиях голодания, но снижало медианное время выживания при воздействии гипертермией на 12 % ($p < 0.0001$) (рис. 5А) и не оказывало статистически значимого влияния при воздействии индуктором окислительного стресса паракватом (рис. 5А, табл. 5). У самок в возрасте 10 суток

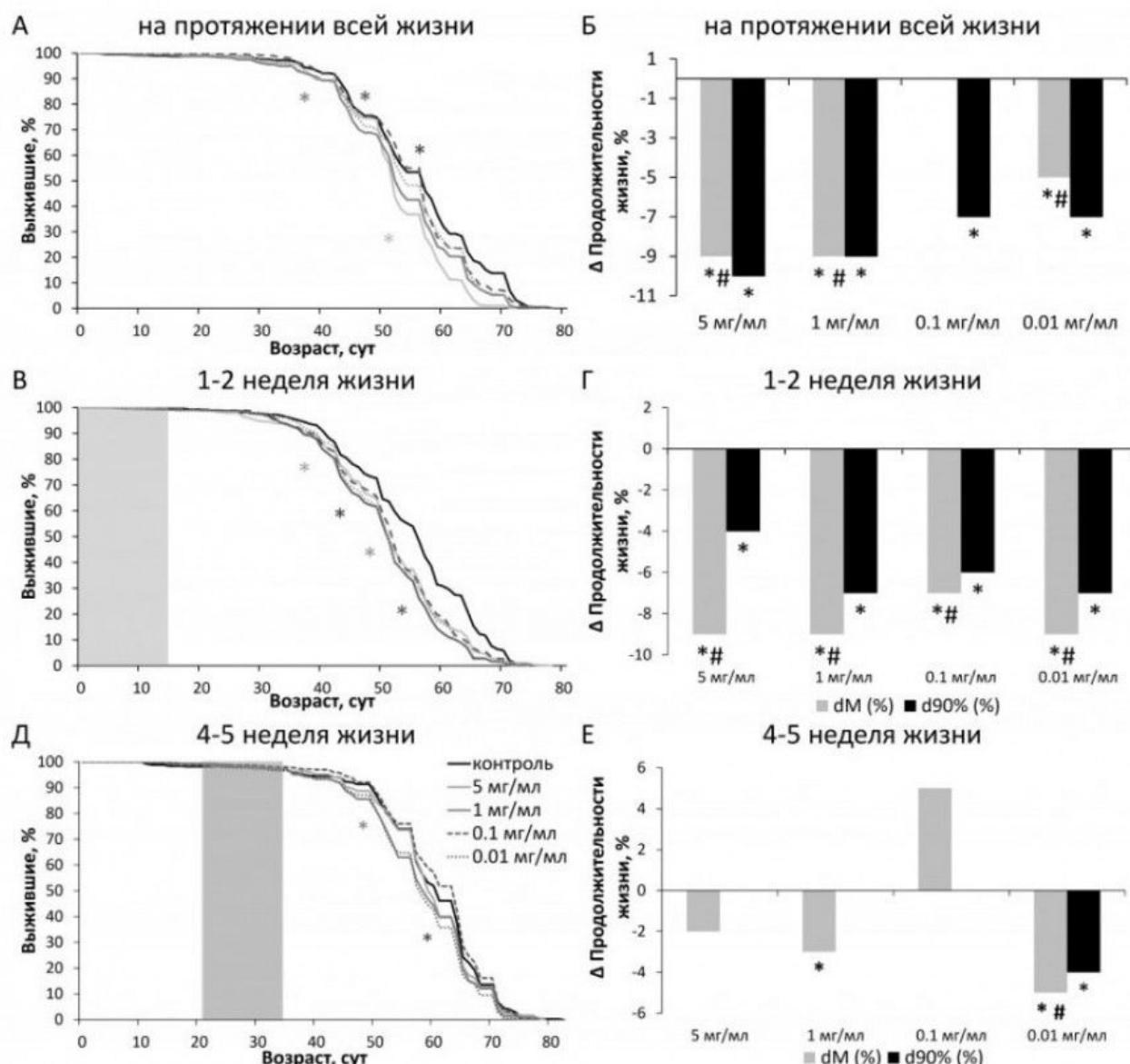


Рис. 2. Влияние SLE на продолжительность жизни самцов *D. melanogaster* при кормлении в разном возрасте: в течение всей жизни (А, Б), в первые 2 недели после вылупления имаго (В, Г), на 4–5-й неделе жизни (Д, Е). Кривые выживания (А, В, Д), изменение медианной (dM) и максимальной (d90%) продолжительности жизни (Б, Г, Е). Серый фон показывает возраст обработки SLE. * $p < 0.05$

Fig. 2. Effect of SLE on lifespan of *D. melanogaster* males fed at different ages: throughout life (A, B), in the first 2 weeks after adult emergence (B, Г), at 4–5 weeks of age (D, E). Survival curves (A, B, Д), change in median (dM) and maximum (d90%) lifespan (Б, Г, Е). Gray background shows the age of SLE treatment. * $p < 0.05$

предварительная обработка SLE в концентрации 5 мг/мл не оказала влияния на устойчивость к воздействию стресс-факторов (рис. 5Б, табл. 5).

В возрасте 33 суток при воздействии гипертермией снизилась медианная выживаемость самцов на 20 % ($p < 0.05$) и на 12 % у самок ($p < 0.05$) (рис. 5В; табл. 6). При голодании увеличилась медианная выживаемость самок на 6 % ($p < 0.05$) (рис. 7Г; табл. 6), но не было показано статистически значимого влияния воздействия параквата на выживаемость особей обоих полов.

Целостность кишечного барьера

Влияние SLE на целостность кишечного барьера у самцов и самок *D. melanogaster* в возрасте 6 и 8 недель оценивали с помощью «Smurf»-теста с последующим двухфакторным дисперсионным анализом (см. табл. 7). У самцов влияние возраста оказалось погранично значимым ($F = 3.48$, $p = 0.062$), а эффект экстракта и взаимодействие (возраст \times экстракт) не достигли статистической значимости (соответственно $F = 1.30$, $p = 0.269$ и $F = 0.21$, $p = 0.935$). У самок влияние возраста также было близко к порогу значимости

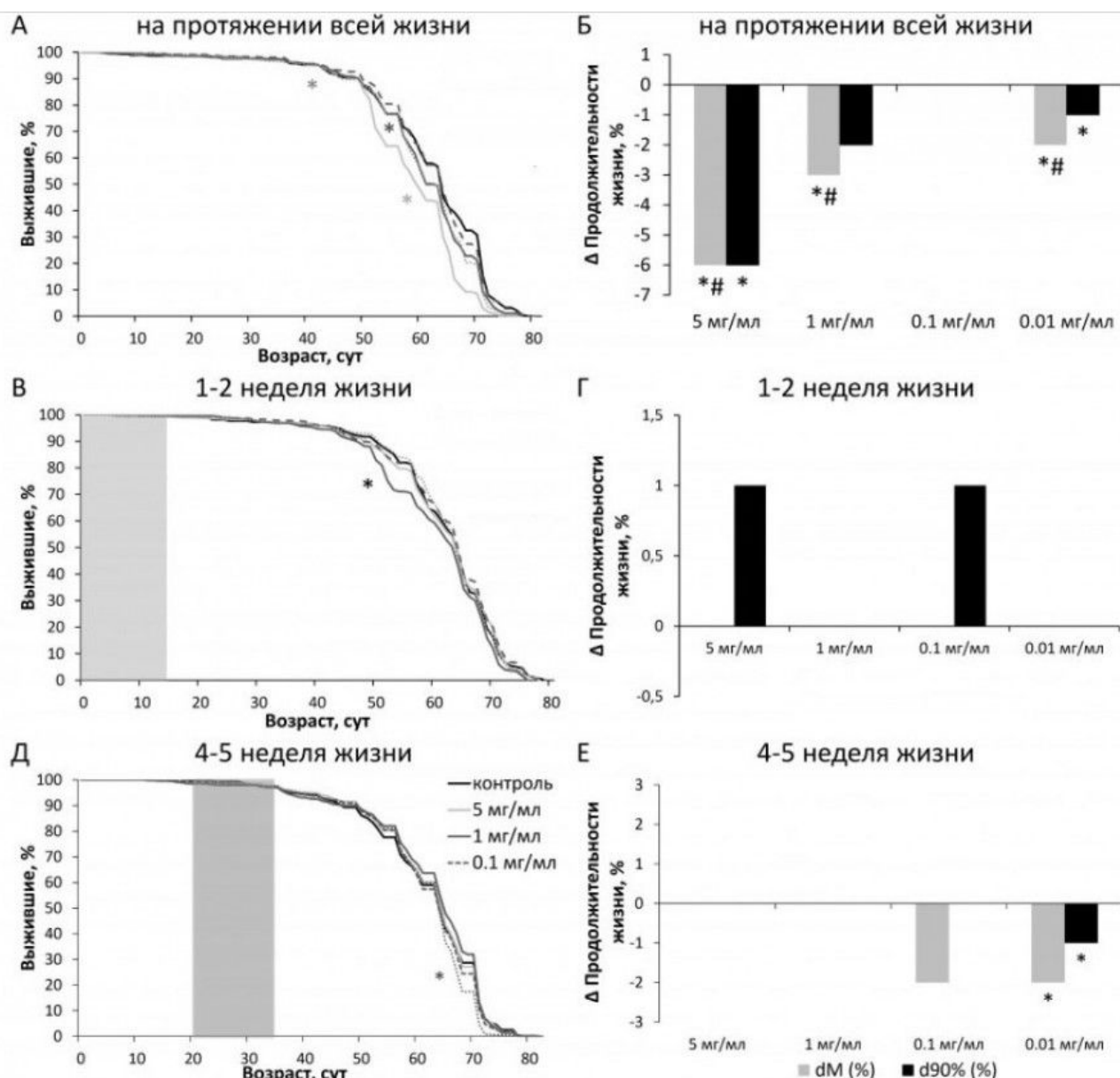


Рис. 3. Влияние SLE на продолжительность жизни самок *D. melanogaster* при кормлении в разном возрасте: в течение всей жизни (А, Б), в первые 2 недели после вылупления имаго (В, Г), на 4–5-й неделе жизни (Д, Е). Кривые выживания (А, В, Д), изменение медианной (dM) и максимальной (d90%) продолжительности жизни (Б, Г, Е). Серый фон показывает возраст обработки SLE. * $p < 0.05$

Fig. 3. Effect of SLE on lifespan of *D. melanogaster* females fed at different ages: throughout life (A, B), in the first 2 weeks after hatching (B, Г), at 4–5 weeks of age (Д, Е). Survival curves (A, В, Д), change in median (dM) and maximum (d90%) lifespan (Б, Г, Е). Gray background shows the age of SLE treatment. * $p < 0.05$

($F = 3.30$, $p = 0.069$), тогда как ни концентрация экстракта ($F = 0.19$, $p = 0.946$), ни взаимодействие факторов ($F = 0.19$, $p = 0.942$) не показали значимого влияния. Полученные результаты демонстрируют сходную картину возрастных изменений у обоих полов при отсутствии достоверного влияния SLE и его взаимодействия с возрастом на проявление фенотипа «Smurf».

Влияние SLE на потребление пищи

Влияние SLE на уровень потребления пищи оценивали у самцов и самок *D. melanogaster*

в возрасте 15 и 35 суток. Концентрация SLE в питательной среде составила 0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил статистически значимое влияние ($p < 0.05$) как концентрации экстракта, так и возраста особей на уровни потребления пищи у обоих полов (рис. 6, табл. 11). У самцов было увеличено потребление питательной среды с экстрактом в концентрации 0.1 мг/мл в возрасте 15 суток (в 2 раза) и 35 суток по сравнению с контролем. У самок также наблюдалось статистически значимое

Таблица 2. Влияние SLE, применяемого в течение всей жизни, на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Вариант (мг/мл)	Пол	M (сут)	dM (%)	Тест Мантеля – Кокса	Тест Гехана – Бреслоу – Вилкоксона	90 % (сут)	d90% (%)	Тест Ванг – Аллисона	N
Контроль	♂	57	n/a	n/a	n/a	71	n/a	n/a	472
0.01	♂	54	-5	$p < 0.0001$	$p < 0.05$	66	-7	$p < 0.0001$	469
0.1	♂	57	0	$p < 0.05$	$p > 0.05$	66	-7	$p < 0.05$	457
1	♂	52	-9	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	65	-9	$p < 0.0001$	475
5	♂	52	-9	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	64	-10	$p < 0.001$	478
Контроль	♀	64	n/a	n/a	n/a	72	n/a	n/a	468
0.01	♀	63	-2	$p < 0.0001$	$p < 0.01$	71	-1	$p < 0.0001$	479
0.1	♀	64	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	-1	$p > 0.05$	464
1	♀	62	-3	$p < 0.01$	$p < 0.05$	71	0	$p > 0.05$	482
5	♀	60	-6	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	68	-6	$p > 0.05$	470

Примечание здесь и в табл. 3, 4. M – медианная продолжительность жизни, 90 % – возраст смертности 90 % выборки (максимальная продолжительность жизни), dM (%) – разница в медианной продолжительности жизни, d90% (%) – разница в возрасте 90 % смертности, N – количество мух, ♂ – самцы, ♀ – самки, n/a – не применимо.

Таблица 3. Влияние SLE, применяемого в возрасте 1–2 недель на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Вариант (мг/мл)	Пол	M (сут)	dM (%)	Тест Мантеля – Кокса	Тест Гехана – Бреслоу – Вилкоксона	90 % (сут)	d90% (%)	Тест Ванг – Аллисона	N
Контроль	♂	56	n/a	n/a	n/a	68	n/a	n/a	471
0.01	♂	51	-9	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	63	-7	$p < 0.0001$	488
0.1	♂	52	-7	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	64	-6	$p < 0.0001$	472
1	♂	51	-9	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	63	-7	$p < 0.0001$	486
5	♂	51	-9	$p < 0.0001$	$p < 0.0001$	65	-5	$p < 0.0001$	485
Контроль	♀	64	n/a	n/a	n/a	71	n/a	n/a	473
0.01	♀	64	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	71	0	$p > 0.05$	469
0.1	♀	64	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	1	$p > 0.05$	467
1	♀	64	0	$p < 0.01$	$p < 0.05$	71	0	$p < 0.05$	474
5	♀	64	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	1	$p > 0.05$	468

Таблица 4. Влияние SLE, применяемого в возрасте 4–5 недель, на продолжительность жизни *D. melanogaster*

Вариант (мг/мл)	Пол	M (сут)	dM (%)	Тест Мантеля – Кокса	Тест Гехана – Бреслоу – Вилкоксона	90 % (сут)	d90% (%)	Тест Ванг – Аллисона	N
Контроль	♂	61	n/a	n/a	n/a	71	n/a	n/a	495
0.01	♂	60	-2	$p > 0.05$	$p > 0.05$	71	0	$p > 0.05$	495
0.1	♂	59	-3	$p < 0.01$	$p > 0.05$	71	0	$p > 0.05$	491
1	♂	64	5	$p > 0.05$	$p > 0.05$	71	0	$p > 0.05$	491
5	♂	58	-5	$p < 0.0001$	$p < 0.001$	68	-4	$p < 0.01$	487
Контроль	♀	65	n/a	n/a	n/a	72	n/a	n/a	478
0.01	♀	65	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	0	$p < 0.0001$	472
0.1	♀	65	0	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	0	$p > 0.05$	473
1	♀	64	-2	$p > 0.05$	$p > 0.05$	72	0	$p > 0.05$	499
5	♀	64	-2	$p < 0.001$	$p > 0.05$	71	-1	$p > 0.05$	465

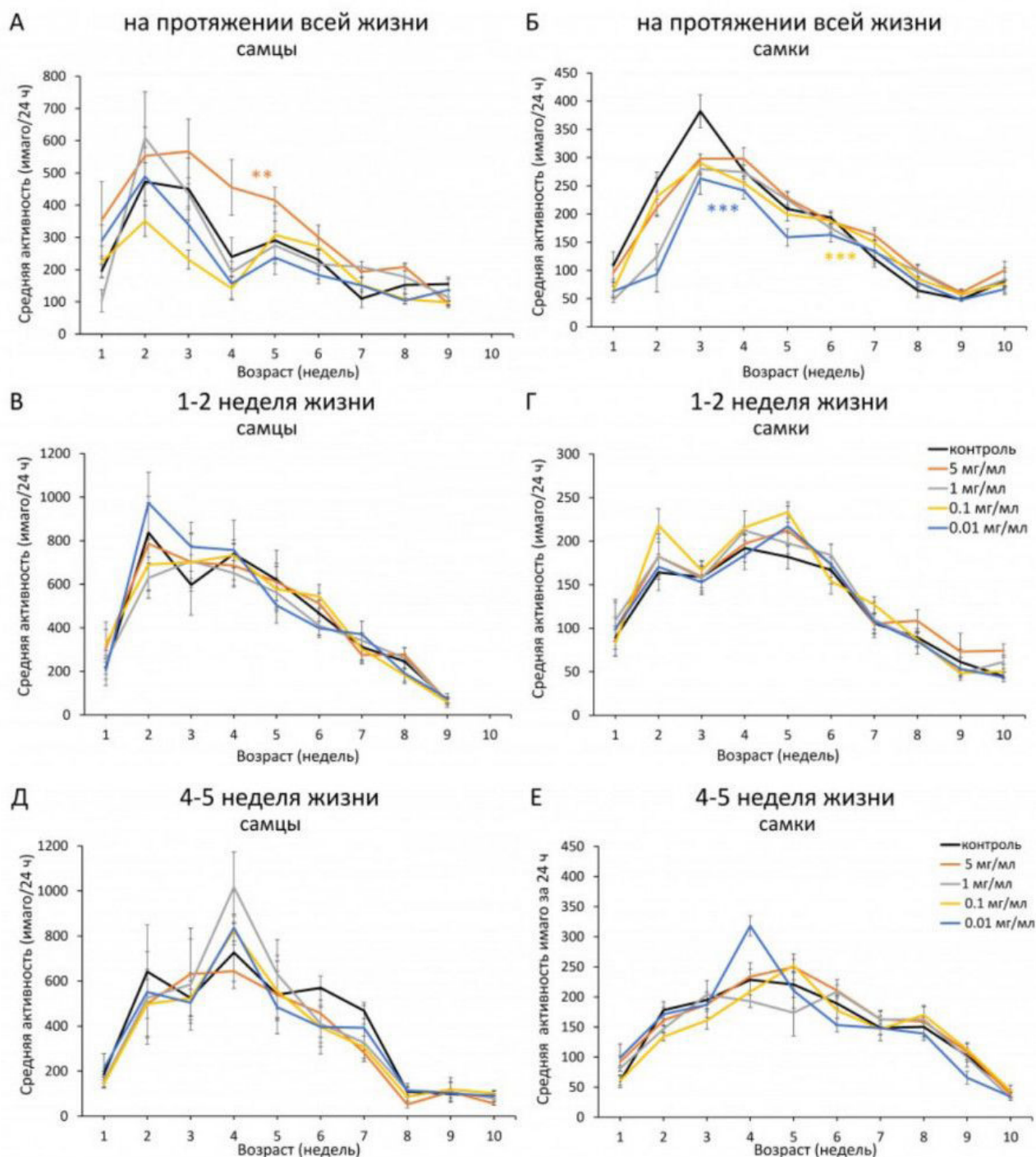


Рис. 4. Влияние SLE на возрастные изменения двигательной активности самцов (А, В, Д) и самок (Б, Г, Е) в зависимости от концентрации экстракта. Добавление SLE проводилось на протяжении всей жизни имаго (А, Б), в течение первых двух недель (В, Г) и на 4–5-й неделе (Д, Е) жизни имаго. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, статистический анализ проводился с использованием двухфакторного дисперсионного анализа с последующими апостериорными тестами Тьюки HSD для попарных сравнений

Fig. 4. Effect of SLE on age-related changes in motor activity of males (А, В, Д) and females (Б, Г, Е) depending on the concentration of the extract. SLE was added throughout the life of the imago (А, Б), during the first two weeks (В, Г) and at 4–5 weeks (Д, Е) of the life of the imago. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, statistical analysis was performed using two-way ANOVA followed by Tukey's HSD post hoc tests for pairwise comparisons

Таблица 5. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа локомоторной активности с учетом возраста мух и кормления SLE. Добавление SLE проводилось на протяжении всей жизни имаго

Фактор	SS	DF	MS	F	p
Самцы					
Экстракт	59561441.77	4	14890360.44	9.102	7.80E-07
Возраст	333716377	8	41714547.13	25.499	8.20E-28
Экстракт × Возраст	49369494.8	32	1542796.71	0.943	0.5596
Ошибка	368081509.1	225	1635917.82		
Итого	810728822.7	269			
Самки					
Экстракт	7420935.66	4	1855233.92	12.668	2.10E-09
Возраст	193758000.7	9	21528666.75	147.001	1.60E-94
Экстракт × Возраст	4022897.72	36	111747.16	0.763	0.8343
Ошибка	36613096.3	250	146452.39		
Итого	241814930.4	299			

Примечание здесь и в табл. 6, 7, 10, 11, 12. SS – сумма квадратов, DF – степени свободы, MS – средние квадраты. Результат теста Фишера: F – F-значение и p – p-значение.

Таблица 6. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа локомоторной активности с учетом возраста мух и обработки SLE. Добавление SLE проводилось в течение первых двух недель жизни имаго

Фактор	SS	DF	MS	F	p
Самцы					
Экстракт	12387314	4	3096828	0.680	0.6066
Возраст	1388525317	9	154280591	33.872	0.00000
Экстракт × Возраст	109232167	36	3034227	0.666	0.9264
Ошибка	910972542	200	4554863		
Итого	2421117340	249			
Самки					
Экстракт	1083712	4	270928	2.068	0.08640
Возраст	84909908	9	9434434	72.000	0.00000
Экстракт × Возраст	11235182	36	312088	2.382	0.00010
Ошибка	26206591	200	131033		
Итого	123435393	249			

увеличение потребления пищи в 3 раза с SLE в концентрациях 0.1 и 1 мг/мл в возрасте 15 суток. В зрелом возрасте (35 сут) у самок увеличилось потребление пищи в 4 раза с добавлением экстракта в концентрации 1 мг/мл (см. рис. 6) по сравнению с контрольными мухами.

Влияние SLE на экспрессию генов

Для исследования влияния экстракта листьев аронии Мичурина на механизмы жизнеспособности и стресс-ответа у *D. melanogaster* были оценены уровни экспрессии генов с помощью qRT-PCR. Исследовали экспрессию генов, ассоциированных с ключевыми процессами старения, включая регуляцию энергетического баланса (*akh*),

аутофагию (*atg1* и *atg5*), защиту от окислительного стресса (*cat*, *sod1* и *sod2*), реакцию на тепловой шок (*hsp26*, *hsp27* и *hsp68*), сигнализацию инсулина (*ilp5*), липидный метаболизм (*lip3*), а также рост и метаболизм клеток (*mTor*, *tsc1* и *tsc2*).

Большинство проанализированных генов не показали значительных изменений ($p > 0.05$) в экспрессии в ответ на добавление SLE. Однако обработка экстрактом повлияла на экспрессию нескольких конкретных генов.

Двухфакторный дисперсионный анализ (экстракт × ген) с последующими множественными попарными сравнениями с использованием апостериорного теста Тьюки

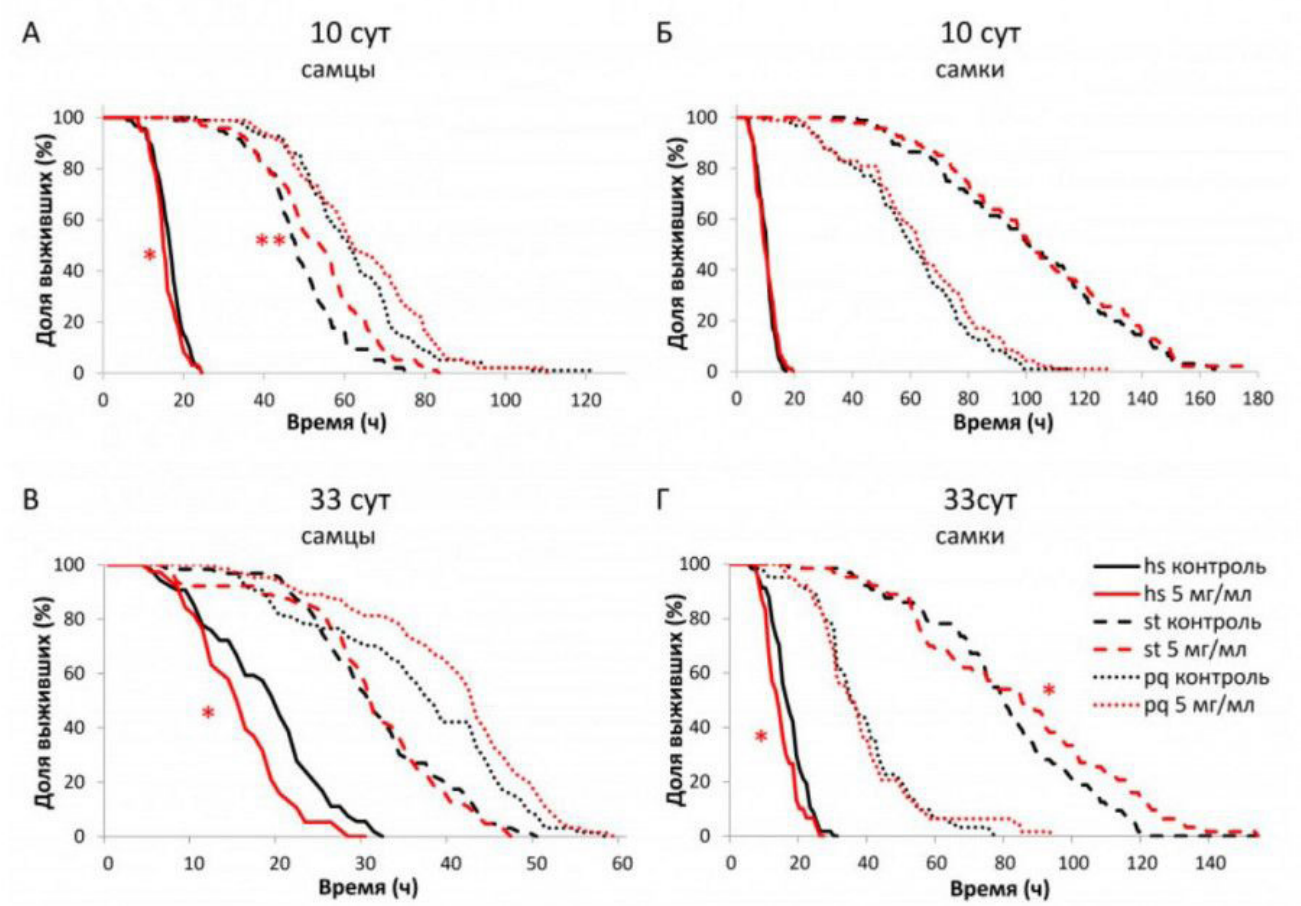


Рис. 5. Влияние SLE в концентрации 5 мг/мл на устойчивость самцов (А, В) и самок (Б, Г) в возрасте 10 суток (А, Б) и 33 суток (В, Г) к гипертермии (hs), голоданию (st) и параквату (pq). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Fig. 5. The effect of SLE at a concentration of 5 mg/ml on the resistance of males (A, B) and females (Б, Г) at the age of 10 days (A, Б) and 33 days (В, Г) to hyperthermia (hs), starvation (st) and paraquat (pq). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$

Таблица 8. Влияние SLE (5 мг/мл) на устойчивость самцов и самок в возрасте 10 суток к гипертермии, голоданию и параквату

Вариант	Стресс-фактор	Пол	50 % (ч)	d50% (%)	WA	90 % (ч)	d90% (%)	WA	LR _{bf}	N
контроль	гипертермия	♂	17	n/a	n/a	22	n/a	n/a	n/a	93
SLE (5 мг/мл)	гипертермия	♂	15	-11.8	0.0006	20	-9.1	0.1972	0.0418	96
контроль	голодание	♂	48	n/a	n/a	63	n/a	n/a	n/a	96
SLE (5 мг/мл)	голодание	♂	55	14.6	0.0485	70	11.1	0.0862	0.0029	96
контроль	паракват	♂	62	n/a	n/a	79	n/a	n/a	n/a	96
SLE (5 мг/мл)	паракват	♂	63	1.6	0.7743	83	5.1	0.3769	0.1664	95
контроль	гипертермия	♀	11	n/a	n/a	14	n/a	n/a	n/a	95
SLE (5 мг/мл)	гипертермия	♀	10	-9.1	0.9754	15	7.1	0.7529	0.5102	96
контроль	голодание	♀	102	n/a	n/a	144	n/a	n/a	n/a	96
SLE (5 мг/мл)	голодание	♀	102	0.0	0.8164	148	2.8	0.8083	0.5049	94
контроль	паракват	♀	61	n/a	n/a	88	n/a	n/a	n/a	96
SLE (5 мг/мл)	паракват	♀	63	3.3	0.5984	93	5.7	0.3564	0.2053	94

Примечание здесь и в табл. 9. n/a – не применимо; ♂ – самцы; ♀ – самки; 50 % – медианное значение выживаемости, d50% (%) – разница в медианном значении выживаемости, 90 % – максимальное значение выживаемости, d90% (%) – разница в максимальном значении выживаемости, WA – тест Ванга – Аллисона, LR_{bf} – логранговый тест с поправкой Бонферрони для множественных сравнений, N – количество мух.

Таблица 9. Влияние SLE (5 мг/мл) на устойчивость самцов и самок в возрасте 33 суток к гипертермии, голоданию и параквату

Вариант	Стресс фактор	Пол	50 % (ч)	d50% (%)	WA	90 % (ч)	d90% (%)	WA	LR_{bf}	N
контроль	гипертермия	♂	20	n/a	n/a	28	n/a	n/a	n/a	54
SLE (5 мг/мл)	гипертермия	♂	16	-20	0.015	28	0	0.3938	0.005	38
контроль	голодание	♂	31	n/a	n/a	43	n/a	n/a	n/a	63
SLE (5 мг/мл)	голодание	♂	31	0	0.9831	43	0	0.9398	0.8193	64
контроль	паракват	♂	38	n/a	n/a	49	n/a	n/a	n/a	64
SLE (5 мг/мл)	паракват	♂	43	13.1	0.175	52	6.1	0.101	0.053	64
контроль	гипертермия	♀	16	n/a	n/a	23	n/a	n/a	n/a	57
SLE (5 мг/мл)	гипертермия	♀	13	-11.8	0.0923	19	-11.4	0.7331	0.0482	30
контроль	голодание	♀	80	n/a	n/a	112	n/a	n/a	n/a	64
SLE (5 мг/мл)	голодание	♀	85	6.25	0.2575	123	9.8	0.0356	0.0438	63
контроль	паракват	♀	35	n/a	n/a	55	n/a	n/a	n/a	62
SLE (5 мг/мл)	паракват	♀	35	0	0.9341	55	0	0.9999	0.9929	63

Таблица 10. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа влияния возраста и SLE на частоту фенотипа «Smurf» у самцов и самок *D. melanogaster*

Пол	Фактор	SS	DF	MS	F	p
Самцы	Возраст	0.0421	1	0.0421	3.48	0.062
	Экстракт	0.0627	4	0.0157	1.30	0.269
	Возраст × Экстракт	0.0100	4	0.0025	0.21	0.935
	Ошибка	25.5672	2117	0.0121		
Самки	Возраст	0.2109	1	0.2109	3.30	0.069
	Экстракт	0.0474	4	0.0119	0.19	0.946
	Возраст × Экстракт	0.0495	4	0.0124	0.19	0.942
	Ошибка	128.2603	2007	0.0639		

HSD показал, что экспрессия *ilp5* и *lip3* была снижена ($p < 0.05$) у самок после добавления SLE в концентрации 5 мг/мл. У самцов также наблюдали снижение экспрессии *lip3* ($p < 0.05$) (рис. 7). Эти результаты свидетельствуют о влиянии SLE на экспрессию генов, связанных с метаболизмом липидов (*lip3*), у обоих полов и на сигнализацию инсулина (*ilp5*) у самок.

Обсуждение

В данной работе мы исследовали влияние этанолового экстракта листьев аронии Мичурина на адаптивную способность обоих полов *D. melanogaster* как в оптимальных, так и в стрессовых условиях. Исследуемый нами экстракт листьев продемонстрировал

токсическое воздействие на продолжительность жизни обоих полов *D. melanogaster* при применении в разном возрасте и концентрациях (0.01, 0.1, 1 и 5 мг/мл), причем наиболее значительное сокращение продолжительности жизни наблюдалось при более высоких концентрациях.

Согласно опубликованным исследованиям, общее содержание фенолов в экстракте листьев *Aronia melanocarpa* составляет 131.5 мг эквивалентов хлорогеновой кислоты/г экстракта (ванилиновая кислота, кофейная кислота, феруловая кислота, рутин, розмариновая кислота, кверцетин, лютеолин, нарингенин, кемпферол) (Cvetanović et al., 2018), а общее количество флавоноидов – 88.6 мг эквивалента рутина/г экс-

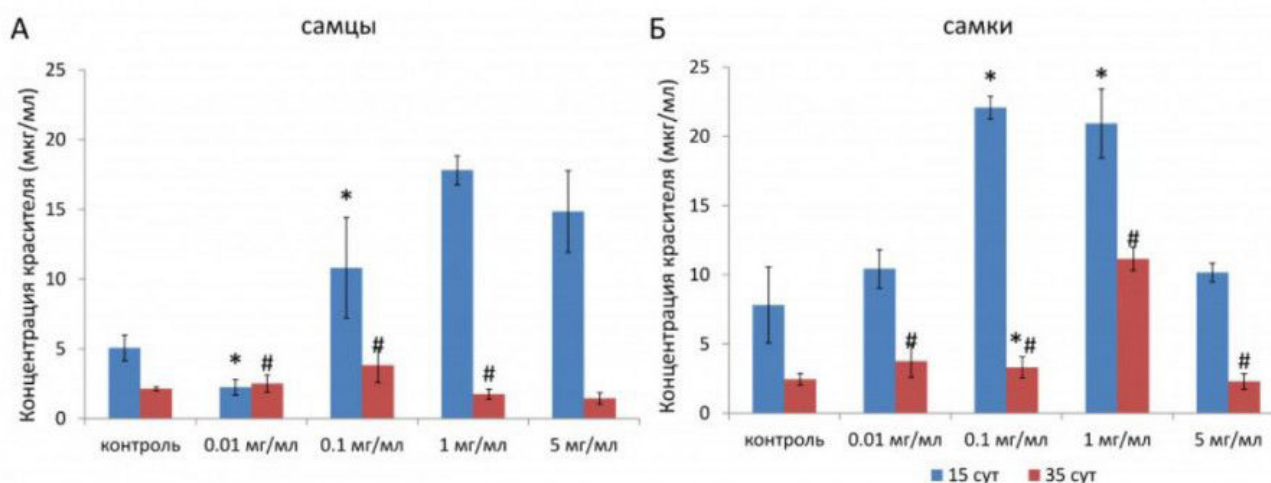


Рис. 6. Влияние SLE на уровень потребления пищи у самцов (А) и самок (Б) в зависимости от возраста особи и концентрации экстракта. Показаны различия между контролем и опытом в зависимости от концентрации экстракта (* $p < 0.05$) и возраста обработки экстрактом (# $p < 0.05$). Статистическая обработка проводилась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа с последующими post-hoc тестами Тьюки HSD для попарных сравнений

Fig. 6. Effect of SLE on food consumption in males (A) and females (Б) depending on the age of the individual and the extract concentration. Differences between the control and the experiment depending on the extract concentration (* $p < 0.05$) and the age of treatment with the extract (# $p < 0.05$) are shown. Statistical processing was performed using two-way analysis of variance followed by Tukey's HSD post-hoc tests for pairwise comparisons

Таблица 11. Результаты дисперсионного анализа потребления пищи в зависимости от возраста мух и кормления SLE

Фактор	SS	DF	MS	F	<i>p</i>
Самцы					
Экстракт	390.143	4	97.536	7.5046	0.00014
Возраст	746.964	1	746.964	57.473	0.00000
Экстракт×Возраст	472.697	4	118.174	9.0926	0.00003
Ошибка	506.873	39	12.997		
Самки					
Экстракт	836.915	4	209.229	20.708	0.00000
Возраст	1145.401	1	1145.401	113.362	0.00000
Экстракт×Возраст	284.490	4	71.122	7.039	0.00023
Ошибка	394.055	39			

тракта (Cvetanović et al., 2018). Экстракт листьев аронии Мичурина, использованный в данном исследовании, содержит галловую кислоту, рутин (рутозид, витамин Р), изокверцетин и кемпферол, что согласуется с результатами более ранних исследований фенольного состава экстракта листьев аронии (*Aronia melanocarpa*) (Cvetanović et al., 2018; Owczarek et al., 2022; Saracila et al., 2024). Было обнаружено, что содержание полифенолов и антиоксидантные свойства метанольных экстрактов листьев аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*), собранных в разном возрасте (молодые (2 недели),

зрелые (2 месяца) и старые листья (4 месяца)), могут отличаться друг от друга (Lee et al., 2014). Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) показала, что молодые листья аронии черноплодной (*Aronia melanocarpa*) содержат наибольшее количество полифенолов, чем двух- и четырехмесячные листья, кроме того, молодые листья проявляют более высокую антиоксидантную активность, чем листья, собранные в позднем возрасте (Lee et al., 2014). Ранее было установлено, что на состав биологически активных веществ, содержащихся в листьях аронии, влияют место произрастания, кли-

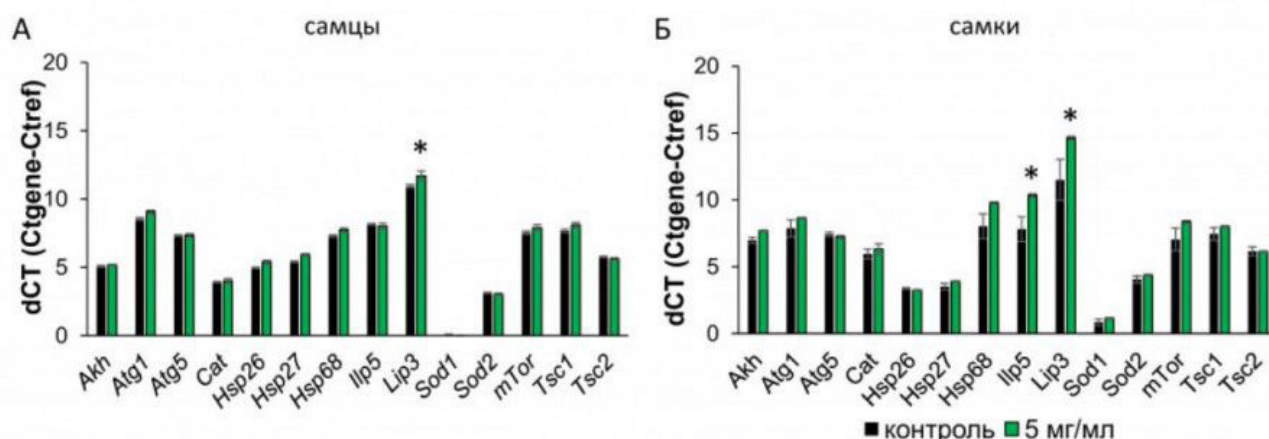


Рис. 7. Влияние SLE на уровень экспрессии генов, связанных со старением, у самцов (А) и самок (Б) мух в возрасте 14 дней. Значения Ct (пороги цикла) обратно пропорциональны уровням транскриптов мРНК. Значения дельта Ct (dCt) рассчитывались как разница между значениями Ct для целевых генов и референтных генов (β -тубулин, *eEF1 α 2* и *RpL32*). Более высокие значения dCt соответствуют более низким уровням экспрессии. Графики представляют среднее значение трех биологических повторностей, по три технических в каждой. Планки погрешностей представляют стандартную ошибку среднего. * $p < 0.05$, значимость определялась с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующими апостериорными тестами Тьюки HSD для попарных сравнений

Fig. 7. Effect of SLE on expression levels of aging-related genes in 14-day-old male (A) and female (B) flies. Ct values (cycle thresholds) are inversely related to mRNA transcript levels. Delta Ct (dCt) values were calculated as the difference between Ct values for target genes and reference genes (β -tubulin, *eEF1 α 2*, and *RpL32*). Higher dCt values correspond to lower expression levels. Graphs represent the average of three biological replicates, three technical replicates each. Error bars represent standard error of the average. * $p < 0.05$, significance was determined by two-way ANOVA followed by Tukey HSD post hoc tests for pairwise comparisons

Таблица 12. Результаты двухфакторного дисперсионного анализа эффектов SLE на уровень экспрессии генов, связанных со старением

Фактор	SS	DF	MS	F	p
Самцы					
Ген	1802.92	13	138.686	871.28	0.00000
Экстракт	3.229	1	3.229	20.29	0.000011
Экстракт × Ген	4.944	13	0.380	2.39	0.005105
Ошибка	34.700	218	0.159		
Самки					
Ген	2086.21	13	160.48	79.661	0.00000
Экстракт	44.12	1	44.12	21.899	0.000005
Экстракт × Ген	57.20	13	4.40	2.184	0.011062
Ошибка	447.22	222	2.01		

матическая зона, дата сбора, способ сушки и дальнейший вид экстракции (Cvetanović et al., 2018; Jurendić, Ščetar, 2021; Negreanu-Pirjol et al., 2023; Platonova et al., 2021; Saracila et al., 2024; Thi, Hwang, 2014).

Ранее биодоступность полифенолов из плодов и листьев аронии (*Aronia melanocarpa*) изучалась *in vitro* с использованием моделей пищеварительных жидкостей человека: имитированной слюнной, желудочной и кишечной сред на основе стандартных электролитных растворов (Minekus

et al., 2014; Saracila et al., 2024). Результаты показали, что полифенолы из листьев аронии демонстрируют наибольшую биодоступность в желудочной фазе, тогда как полифенолы из плодов активнее высвобождаются в кишечной фазе (Saracila et al., 2024).

Для дальнейшего изучения физиологических эффектов листьев аронии мы провели эксперимент на *Drosophila melanogaster*. Установлено, что добавление экстракта (0.1 и 1 мг/мл) вызвало повышение потребление питательной среды как у молодых (15 суток),

так и у зрелых (35 суток) особей обоего пола, что свидетельствует о его пищевой привлекательности для мух. При этом экстракт листьев аронии, несмотря на стимуляцию потребления пищи, не нарушает целостность кишечного барьера даже при длительном воздействии (6 и 8 недель). Также важно отметить, что исследуемый экстракт не оказывал статистически значимого влияния на двигательную активность *D. melanogaster* ни в одном из возрастных периодов, что свидетельствует об отсутствии токсического воздействия на базовые двигательные функции.

Кроме того, мы исследовали воздействие влияние экстракта листьев аронии (5 мг/мл) на выживаемость плодовых мушек в неблагоприятных условиях окружающей среды (окислительный стресс, гипертермия, голодание). В нашем исследовании окислительный стресс, вызванный прооксидантом паракватом, не оказал статистически значимого воздействия на медианную и максимальную выживаемость особей обоих полов *D. melanogaster* в возрасте 10 и 33 суток при предварительной обработке SLE (5 мг/мл). По всей видимости, изученный нами экстракт в данной концентрации обладает меньшей антиоксидантной активностью. Однако известны исследования, в которых листья аронии проявляют высокий антиоксидантный потенциал, при этом молодые листья обладают более высоким содержанием полифенолов и флавоноидов, чем старые листья (Cvetanović et al., 2018; Thi, Hwang, 2014), что, теоретически, может повысить устойчивость организма в неблагоприятных условиях, вызванных окислительным стрессом. Предобработка SLE в концентрации 5 мг/мл снижала медианную выживаемость в условиях гипертермии у самцов на 12 % в молодом возрасте (10 суток) и на 20 % во взрослом (33 суток), а у взрослых самок на 12 %. Также нами установлено, что экстракт листьев аронии Мичурина (5 мг/мл), который мы исследовали, увеличил медианную выживаемость на 15 %, а максимальную выживаемость на 11 % у молодых самцов (10 сут), а у взрослых (33 сут) самок *D. melanogaster* на 6 % в условиях голодания. В условиях голодания, возможно, выживаемость *D. melanogaster* обусловлена общим снижением скорости метаболизма липидов, белков и углеводов в организме (Marron et al., 2003). Кроме того, рутин (который также присутствует в нашем экстракте) в концентрации 400 мкМ повышал устойчивость к го-

лоданию, тепловому и холодовому стрессу *Drosophila melanogaster*, содержащихся на питательной среде с высоким содержанием жиров (Chattopadhyay, Thirumurugan, 2020).

Известно, что в условиях краткосрочного голодания увеличивается выживаемость организма, но при длительном голодании происходит максимальное использование всех внутренних ресурсов организма (Hänschke et al., 2022). Согласно исследованию, повышение уровня липазы оказывает положительное влияние на общее состояние здоровья организма, в частности за счет усиления обменных процессов и улучшения общего состояния здоровья (Chandra et al., 2020). Как было установлено в наших предыдущих исследованиях, динамика общего содержания липидов в контрольной линии w/w и долгоживущих мутантных мухах *E(z)/w* имела сходную тенденцию к постепенному увеличению до возраста 100 суток с последующим снижением по мере старения и приближения к концу жизни (Shaposhnikov et al., 2022). Lea Hänschke et al. продемонстрировали, что *lip3* играет важную роль в липидном обмене веществ и значительно активируется в ответ на нехватку питательных веществ и у старых мух (Hänschke et al., 2022). Более того, обнаружено, что самцы-мутанты *lip3* проявляют повышенную чувствительность к голоданию, но при этом демонстрируют увеличение продолжительности жизни, что подчеркивает существование потенциальных половых различий в регуляции липидного метаболизма и реакции на стресс (Hänschke et al., 2022). Кроме того, изменение липидного обмена приводит к изменениям в липидных профилях, которые могут увеличить риск возрастных заболеваний и повлиять на общее состояние здоровья. Многочисленные исследования свидетельствуют, что экстракты листьев содержат биологически активные соединения, способные модулировать липидный метаболизм и влиять на липидный профиль в различных биологических системах (Angiolillo et al., 2021; Simões et al., 2022).

Iip5 – инсулиноподобный пептид, за счет которого вырабатывается инсулин клетками в мозге человека, у дрозофилы он обнаружен после личиночной стадии и является одним из главных регуляторов липидного обмена (Toprak, 2020). У *Drosophila melanogaster* жировое тело играет ключевую роль в энергетическом обмене, выполняя функцию депо триглицеридов, а также участвуя в их метаболизме и регуляции обмена глюкозы (Chatterjee, Perrimon, 2021).

Поддержание жизнедеятельности взрослых особей *Drosophila melanogaster* в условиях голодания обеспечивается секреторными клетками энтоцитами, которые метаболизируют липиды, поступающие из жирового тела (Chatterjee, Perrimon, 2021). Вероятно, благодаря активации этих механизмов организм плодовой мушки адаптируется и приобретает устойчивость к условиям голодания.

В нашем исследовании экстракт листьев аронии Мичурина (5 мг/мл) статистически значимо снижал экспрессию генов метаболизма липидов (*lip3*) у особей обоих полов, а также снижал экспрессию сигнализации инсулина (*ilp5*) у самок *Drosophila melanogaster* в возрасте 14 суток. Эти результаты сопоставимы с полученными нами негативными эффектами на продолжительность жизни особей обоих полов при применении экстракта на протяжении всей жизни (5 мг/мл). Вероятно, необходимо дальнейшее изучение влияния экстракта листьев аронии в концентрациях 0.01, 0.1 и 1 мг/мл на адаптацию особей обоих полов *Drosophila melanogaster* к неблагоприятным условиям окружающей среды, сопоставимых с исследованиями на продолжительность жизни.

Таким образом, изучение экологических функций растений позволяет понять взаимодействия между различными видами в экосистемах, а также рассмотреть перспективы разработок более безопасных и экологически устойчивых методов борьбы с вредителями (Rajput et al., 2023).

В данном исследовании мы всесторонне изучили воздействие экстракта листьев аронии Мичурина, рассматривая его через призму двух взаимосвязанных аспектов. В экологическом контексте мы оценили влияние данного биотического фактора на модельный организм *D. melanogaster*, что позволило проанализировать взаимодействие растительных метаболитов с насекомыми в искусственно созданной экосистеме. С физиологической точки зрения мы исследовали адаптационный потенциал и показатели жизнеспособности плодовых мушек при воздействии экстракта в различных стрессовых условиях, что дает возможность понять механизмы физиологического ответа на данный фитокомпонент.

Заключение

В настоящем исследовании мы изучили краткосрочные и долгосрочные эффекты экстракта листьев аронии Мичурина *×Sorbaronia mitschurinii* на жизнеспособность *D. melanogaster*. Мы обнаружили, что в краткосрочной перспективе самая высокая концентрация экстракта листьев оказывала адаптивное действие на дрозофилу в неблагоприятных условиях окружающей среды (гипертермия и голодание), что может быть обусловлено активацией защитных клеточных систем через механизм гормезиса. Однако различные концентрации экстрактов листьев аронии Мичурина оказывали долгосрочное токсическое действие на мух, что приводило к сокращению продолжительности жизни у обоих полов. Отсроченное токсическое действие экстракта, по-видимому, связано с истощением защитных резервов и сопутствующим сокращением продолжительности жизни. Кроме того, изучение инсектицидных свойств растительных экстрактов может дать представление о сложной динамике взаимоотношений травоядных и растений. Эти знания необходимы для понимания экологического баланса и роли, которую различные виды играют в поддержании здоровых экосистем.

Результаты нашего исследования могут быть использованы для разработки более безопасных и экологически устойчивых методов борьбы с вредителями. Известно, что обычные химические пестициды оказывают пагубное воздействие на нецелевые организмы и окружающую среду, что приводит к таким проблемам, как загрязнение почвы и воды, потеря биоразнообразия и развитие устойчивости к пестицидам у популяций вредителей. Напротив, инсектициды растительного происхождения, как правило, более биоразлагаемы и менее вредны для полезных насекомых и других диких животных. Использование природных соединений позволяет сделать сельскохозяйственные методы более устойчивыми, тем самым снижая воздействие на окружающую среду и эффективно управляя популяциями вредителей. Применение биологически активных соединений, полученных из растений, для борьбы с вредителями может снизить токсический эффект и побочное воздействие на здоровье человека при употреблении обработанных продуктов питания.

Библиография

- Платонова Е. Ю., Голубев Д. А., Земская Н. В., Михайлова Д. В., Пакшина Н. Р., Тимушева Н. С., Шапошников М. В., Москалев А. А. Влияние экстрактов листьев и ягод аронии Мичурина (*×Sorbaronia mitschurinii*) на продолжительность жизни *Drosophila melanogaster* // Принципы экологии. 2025. № 2. P. 71–83. DOI: 10.15393/j1.art.2025.16042
- Angiolillo A., Leccese D., Palazzo M., Vizzarri F., Casamassima D., Corino C., Di Costanzo A. Effects of Lippia citriodora Leaf Extract on Lipid and Oxidative Blood Profile of Volunteers with Hypercholesterolemia: A Preliminary Study // Antioxidants (Basel). 2021. Vol. 4. DOI: 10.3390/antiox10040521
- Cantwell-Jones A., Ball J., Collar D., Diazgranados M., Douglas R., Forest F., Hawkins J., Howes M. R., Ulian T., Vaitla B., Pironon S. Global plant diversity as a reservoir of micronutrients for humanity // Nat Plants. 2022. Vol. 3. P. 225–232. DOI: 10.1038/s41477-022-01100-6
- Chandra P., Enespa, Singh R., Arora P. K. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review // Microbial Cell Factories. 2020. Vol. 1. P. 1–42. DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8
- Chatterjee N., Perrimon N. What fuels the fly: Energy metabolism in *Drosophila* and its application to the study of obesity and diabetes // Science Advances. 2021. Vol. 7 (24). P. eabg4336. DOI: 10.1126/sciadv.abg4336
- Chattopadhyay D., Thirumurugan K. Longevity-promoting efficacies of rutin in high fat diet fed *Drosophila melanogaster* // Biogerontology. 2020. Vol. 5. P. 653–668. DOI: 10.1007/s10522-020-09882-y
- Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction // Food Chem Toxicol. 2018. Vol. 121. P. 458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045
- Dhaouadi F., Bargougui A., Maamer S., Amri I., Msaad Guerfali M., Hamrouni L., Flamini G., Mejri N. Chemical composition and insecticidal activity of two Eucalyptus essential oils against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) // Journal of Plant Diseases and Protection. 2023. Vol. 3. P. 483–493. DOI: 10.1007/s41348-022-00702-8
- Ferlemi A. V., Lamari F. N. Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value // Antioxidants (Basel). 2016. Vol. 2. DOI: 10.3390/antiox5020017
- Fleming T. R., O'Fallon J. R., O'Brien P. C., Harrington D. P. Modified Kolmogorov-Smirnov Test Procedures with Application to Arbitrarily Right-Censored Data // Biometrics. 1980. Vol. 4. P. 607–625. DOI: 10.2307/2556114
- Foster N., Bhatti J. Forest Ecosystems: Nutrient Cycling // Encyclopedia of Soil Science. New York, 2006. P. 718–721.
- Gao G., Wan W., Zhang S., Redden D. T., Allison D. B. Testing for differences in distribution tails to test for differences in 'maximum' lifespan // BMC medical research methodology. 2008. Vol. 8 (1). P. 1–10. DOI: 10.1186/1471-2288-8-49
- Han S. K., Kwon H. C., Yang J.-S., Kim S., Lee S.-J. V. OASIS portable: User-friendly offline suite for secure survival analysis // Molecules and Cells. 2024. Vol. 2. P. 100011. DOI: 10.1016/j.mocell.2024.100011
- Hänschke L., Heier C., Maya Palacios S. J., Özek H. E., Thiele C., Bauer R., Kühnlein R. P., Bülow M. H. *Drosophila* Lipase 3 Mediates the Metabolic Response to Starvation and Aging // Front Aging. 2022. Vol. 14 (3). P. 800153. DOI: 10.3389/fragi.2022.800153
- Harrington D. P., Fleming T. R. A Class of Rank Test Procedures for Censored Survival Data // Biometrika. 1982. Vol. 3. P. 553–566. DOI: 10.2307/2335991
- Hart A. Mann-Whitney test is not just a test of medians: differences in spread can be important // Bmj. 2001. Vol. 7309. P. 391–393. DOI: 10.1136/bmj.323.7309.391
- Hertel A. G., Steyaert S. M., Zedrosser A., Myrsterud A., Lodberg-Holm H. K., Gelink H. W., Kindberg J., Swenson J. E. Bears and berries: species-specific selective foraging on a patchily distributed food resource in a human-altered landscape // Behav Ecol Sociobiol. 2016. Vol. 70. P. 831–842. DOI: 10.1007/s00265-016-2106-2
- Hikal W. M., S. B. R., and Said-Al Ahl H. A. H. Botanical insecticide as simple extractives for pest control // Cogent Biology. 2017. Vol. 1. P. 1404274. DOI: 10.1080/23312025.2017.1404274
- Hupp J., Michael B., Kira W., and Williamson J. How are your berries? Perspectives of Alaska's environmental managers on trends in wild berry abundance // International Journal of Circumpolar Health. 2015. Vol. 1. P. 28704. DOI: 10.3402/ijch.v74.28704
- Jurendić T., Ščetar M. *Aronia melanocarpa* Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review // Antioxidants. 2021. Vol. 7. P. 1052.
- Krishna M. P., Mohan M. Litter decomposition in forest ecosystems: a review // Energy, Ecology and Environment. 2017. Vol. 4. P. 236–249. DOI: 10.1007/s40974-017-0064-9
- Kulling S. E., Rawel H. M. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects // Planta Med. 2008. Vol. 13. P. 1625–1634. DOI: 10.1055/s-0028-1088306

- Lee J. E., Kim G.-S., Park S., Kim Y.-H., Kim M.-B., Lee W. S., Jeong S. W., Lee S. J., Jin J. S., Shin S. C. Determination of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenol components using liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Overall contribution to antioxidant activity // *Food Chemistry*. 2014. Vol. 146. P. 1–5. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.029
- Leri M., Scuto M., Ontario M. L., Calabrese V., Calabrese E. J., Bucciantini M., Stefani M. Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms // *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. P. 1–39.
- Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT Method // *Methods*. 2001. Vol. 4. P. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
- Lopez-Ortiz C., Gracia-Rodriguez C., Belcher S., Flores-Iga G., Das A., Nimmakayala P., Balagurusamy N., Reddy U. K. *Drosophila melanogaster* as a Translational Model System to Explore the Impact of Phytochemicals on Human Health // *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 17. P. 13365.
- Marron M. T., Markow T. A., Kain K. J., Gibbs A. G. Effects of starvation and desiccation on energy metabolism in desert and mesic *Drosophila* // *J Insect Physiol*. 2003. Vol. 3. P. 261–270. DOI: 10.1016/s0022-1910(02)00287-1
- Mehta C. R., Patel N. R., Tsiatis A. A. Exact significance testing to establish treatment equivalence with ordered categorical data // *Biometrics*. 1984. Vol. 3. P. 819–825.
- Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D. J., Ménard O., Recio I., Santos C. N., Singh R. P., Vegarud G. E., Wickham M. S., Weitschies W., Brodkorb A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus // *Food Funct*. 2014. Vol. 6. P. 1113–1124. DOI: 10.1039/c3fo60702j
- Moskalev A., Chernyagina E., de Magalhães J. P., Barardo D., Thoppil H., Shaposhnikov M., Budovsky A., Fraifeld V. E., Garazha A., Tsvetkov V., Bronovitsky E., Bogomolov V., Scerbacov A., Kuryan O., Gurinovich R., Jellen L. C., Kennedy B., Mamoshina P., Dobrovolskaya E., Aliper A., Kaminsky D., Zhavoronkov A. Geroprotectors.org: a new, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age-related disease // *Aging (Albany NY)*. 2015. Vol. 9. P. 616–628. DOI: 10.18632/aging.100799
- Nanda A., Mahapatra A., Mohapatra B., mahapatra a. Multiple comparison test by Tukey's honestly significant difference (HSD): Do the confident level control type I error // *International Journal of Applied Mathematics and Statistics*. 2021. Vol. 6 (1). P. 59–65. DOI: 10.22271/math.2021.v6.i1a.636
- Negreanu-Pirjol B. S., Oprea O. C., Negreanu-Pirjol T., Roncea F. N., Prelipcean A. M., Craciunescu O., Iosageanu A., Artem V., Ranca A., Motelica L., Lepadatu A. C., Cosma M., Popoviciu D. R. Health Benefits of Antioxidant Bioactive Compounds in the Fruits and Leaves of *Lonicera caerulea* L. and *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot // *Antioxidants (Basel)*. 2023. Vol. 12 (4). DOI: 10.3390/antiox12040951
- Owczarek K., Sosnowska D., Kajszczak D., Lewandowska U. Evaluation of phenolic composition, antioxidant and cytotoxic activity of *Aronia melanocarpa* leaf extracts // *J. Physiol Pharmacol*. 2022. Vol. 73 (2). P. 233–243. DOI: 10.26402/jpp.2022.2.06
- Platonova E. Y., Shaposhnikov M. V., Lee H.-Y., Lee J.-H., Min K.-J., Moskalev A. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria // *Trends in Food Science & Technology*. 2021. Vol. P. 570–584. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.06.020
- Platonova E. Y., Zemskaya N. V., Shaposhnikov M. V., Golubev D. A., Kukuman D. V., Pakshina N. R., Ulyasheva N. S., Punegov V. V., Patov S. A., Moskalev A. Geroprotective effects of *xSorbaronia mitschurinii* fruit extract on *Drosophila melanogaster* // *Journal of Berry Research*. 2022. Vol. 1. P. 73–92. DOI: 10.3233/jbr-211502
- Proshkina E., Koval L., Platonova E., Golubev D., Ulyasheva N., Babak T., Shaposhnikov M., Moskalev A. Polyphenols as Potential Geroprotectors // *Antioxidants & Redox Signaling*. 2024. Vol. 40 (7–9). P. 564–593. DOI: 10.1089/ars.2023.0247
- Proshkina E., Plyusnin S., Babak T., Lashmanova E., Maganova F., Koval L., Platonova E., Shaposhnikov M., Moskalev A. Terpenoids as Potential Geroprotectors // *Antioxidants*. 2020. Vol. 9 (6). DOI: 10.3390/antiox9060529
- Rajput S., Sharma P., Malviya R. Utilization of Herbal Components as Insecticidal and Repellent Effects // *Recent Adv Food Nutr Agric*. 2023. Vol. 3. P. 144–154. DOI: 10.2174/2772574x14666230804102104
- Rera M., Clark R. I., Walker D. W. Intestinal barrier dysfunction links metabolic and inflammatory markers of aging to death in *Drosophila* // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012. Vol. 52. P. 21528–21533. DOI: 10.1073/pnas.1215849110
- Ripple W. J., Beschta R. L., Fortin J. K., Robbins C. T. Wolves trigger a trophic cascade to berries as alternative

- food for grizzly bears // Journal of Animal Ecology. 2015. Vol. 3. P. 652–654. DOI: 10.1111/1365-2656.12339
- Rizzo R., Lo Verde G., Sinacori M., Maggi F., Cappellacci L., Petrelli R., Vittori S., Morshedloo M. R., Fofie N. G. B. Y., Benelli G. Developing green insecticides to manage olive fruit flies? Ingestion toxicity of four essential oils in protein baits on *Bactrocera oleae* // Industrial Crops and Products. 2020. Vol. P. 111884. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111884
- Saracila M., Untea A. E., Oancea A. G., Varzaru I., Vlaicu P. A. Comparative Analysis of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) Fruit, Leaves, and Pomace for Their Phytochemical Composition, Antioxidant Potential, and Polyphenol Bioaccessibility // Foods. 2024. Vol. 13 (12). P. 1856. DOI: 10.3390/foods13121856
- Shaposhnikov M. V., Guvatova Z. G., Zemskaya N. V., Koval L. A., Schegoleva E. V., Gorbunova A. A., Golubev D. A., Pakshina N. R., Ulyasheva N. S., Solovev I. A., Bobrovskikh M. A., Gruntenko N. E., Menshanov P. N., Krasnov G. S., Kudryavseva A. V., Moskaev A. A. Molecular mechanisms of exceptional lifespan increase of *Drosophila melanogaster* with different genotypes after combinations of longevity interventions // Commun Biol. 2022. Vol. 1. P. 566. DOI: 10.1038/s42003-022-03524-4
- Simões M., Salles B., Duarte S., Silva M., Viana A., Moraes G., Figueiredo S., Ferreira E., Rodrigues M., Paula F. Leaf extract of *Coffea arabica* L. reduces lipid peroxidation and has anti-platelet effect in a rat dyslipidemia model // Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences. 2022. Vol. 58 (1). P. 1–13. DOI: 10.1590/s2175-97902022e19562
- Staats S., Lüersen K., Wagner A. E., Rimbach G. *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research // J Agric Food Chem. 2018. Vol. 15. P. 3737–3753. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b05900
- Thi N. D., Hwang E. S. Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages // Prev Nutr Food Sci. 2014. Vol. 3. P. 204–212. DOI: 10.3746/pnf.2014.19.3.204
- Toprak U. The Role of Peptide Hormones in Insect Lipid Metabolism // Front Physiol. 2020. Vol. 11. P. 434. DOI: 10.3389/fphys.2020.00434
- Wang C., Li Q., Redden D. T., Weindruch R., Allison D. B. Statistical methods for testing effects on "maximum lifespan" // Mech Ageing Dev. 2004. Vol. 9. P. 629–632. DOI: 10.1016/j.mad.2004.07.003
- Wang S. Y., Lin H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage // J. Agric. Food Chem. 2000. Vol. 2. P. 140–146. DOI: 10.1021/jf9908345
- Williams B. K. The use of analysis of variance procedures in biological studies // Applied Stochastic Models and Data Analysis. 1987. Vol. 4. P. 207–226. DOI: 10.1002/asm.3150030403
- Wu Q., Yu G., Park S. J., Gao Y., Ja W. W., Yang M. Excreta Quantification (EX-Q) for Longitudinal Measurements of Food Intake in *Drosophila* // iScience. 2020. Vol. 1. P. 100776. DOI: 10.1016/j.isci.2019.100776
- Zhao Y.-Y., Li Z.-T., Xu T., Lou A.-r. Leaf litter decomposition characteristics and controlling factors across two contrasting forest types // Journal of Plant Ecology. 2022. Vol. 6. P. 1285–1301. DOI: 10.1093/jpe/rtac073

Благодарности

Выражаем благодарность Институту химии Коми НЦ РАН за помощь в анализе состава экстракта. Выражаем благодарность Ботаническому саду Института биологии Коми НЦ УрО РАН за сбор листьев аронии Мичурина (Научная коллекция живых растений, № 507428).

Образцы РНК и кДНК готовили с использованием оборудования Центра коллективного пользования «Молекулярная биология» (ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН, Сыктывкар, Россия).

В работе использовали линии из коллекции лабораторных линий плодовых мушек *Drosophila* ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (<https://ckp-rf.ru/catalog/usu/471927/>).

Исследования выполнены в рамках государственного задания Института биологии ФИЦ Коми НЦ УрО РАН по теме «Генетические механизмы стрессоустойчивости и контроля продолжительности жизни для поиска новых мишеней для геропротекторных вмешательств на модели *Drosophila melanogaster*» № 125013101228-2.

COMPREHENSIVE STUDY OF THE ADAPTOGENIC AND INSECTICIDAL POTENTIAL OF THE EXTRACT OF ARONIA MICHURINII LEAVES (*SORBARONIA MITSCHURINII*) ON THE *DROSOPHILA MELANOGASTER* MODEL

PLATONOVA
Elena Yuryevna

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, Dega37@yandex.ru

GOLUBEV
Denis Anatolyevich

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, denismeatboy@gmail.com

ZEMSKAYA
Nadezhda Vladimirovna

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, zemskaya@ib.komisc.ru

TIMUSHEVA
Natalia Sergeevna

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, uliasheva.n.s@ib.komisc.ru

PAKSHINA
Natalya Rishatovna

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, pakshina.n.r@ib.komisc.ru

MIKHAILOVA
Daria Vladimirovna

Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, kukuman@ib.komisc.ru

PATOV
Sergey Alexandrovich

PhD, Institute of Chemistry of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167000 Russia Komi Republic Syktyvkar Pervomayskaya St., 48., ser-patov@yandex.ru

SHAPOSHNIKOV
Mikhail Vyacheslavovich

PhD, Institute of Biology of Komi Scientific Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 167982 Russia Komi Republic Syktyvkar Kommunisticheskaya St., 28, shaposhnikov@ib.komisc.ru

MOSKALEV
Aleksey Alexandrovich

DSc, B.V.Petrovsky Institute of Longevity with a Clinic of Rehabilitation and Preventive Medicine the Russian Scientific Center of Surgery, 119435 Russia Moscow, amoskaev@list.ru

Key words:
extract of aronia
Michurin leaves
stress resistance
plant insecticides
adaptation
Drosophila
melanogaster

Summary: The fruits of black chokeberry, represented by the species *Aronia melanocarpa* and *Sorbaronia mitschurinii*, are widely distributed throughout the world as a source of a wide range of biologically active substances, macro- and micro-molecules. Although, there is little data on the study of leaves, especially on their possible toxic effects on the viability of model organisms. We analyzed the composition of the extract of aronia Michurin leaves, which showed the presence of flavonoids and phenolic compounds in it, including gallic acid, rutin (rutoside, vitamin P), isoquercetin, and kaempferol. The addition of leaf extract throughout the lifespan, at 1-2 and 4-5 weeks, resulted in a reduction in lifespan of individuals of both sexes of *Drosophila melanogaster*. The leaf extract had no statistically significant effect on the functional integrity of the intestinal barrier in both sexes of fruit flies. There were also no adverse effects on the motor activity of fruit flies. The study showed that pre-feeding with the extract as part of a nutrient medium resulted in a 15 % increase in the median survival rate of males under fasting conditions at a young age and a 6 % increase in the survival rate of females under the same conditions at an adult age. However, under hyperthermia conditions, pre-treatment with the extract reduced the survival rate of males at 10 days (by 12 %) and 33 days (by 20 %), as well as decreased the survival rate of females at 33 days (by 12 %). In addition, leaf extract of aronia Michurin reduced the expression of genes associated with lipid metabolism (*lip3*), insulin signaling (*ilp5*) in both sexes of *Drosophila melanogaster*. This may indicate the effect of extract on energy homeostasis and the signaling pathway of insulin in the body. Further research on the biological effects of extract of aronia Michurin leaves may contribute to the development of a natural insecticide that does not have a detrimental effect on the environment.

Received on: 10 June 2025

Published on: 01 October 2025

References

- Angiolillo A., Leccese D., Palazzo M., Vizzarri F., Casamassima D., Corino C., Di Costanzo A. Effects of Lippia citriodora Leaf Extract on Lipid and Oxidative Blood Profile of Volunteers with Hypercholesterolemia: A Preliminary Study, Antioxidants (Basel). 2021. Vol. 4. DOI: 10.3390/antiox10040521
- Cantwell-Jones A., Ball J., Collar D., Diazgranados M., Douglas R., Forest F., Hawkins J., Howes M. R., Ulian T., Vaitla B., Pironon S. Global plant diversity as a reservoir of micronutrients for humanity, Nat Plants. 2022. Vol. 3. P. 225–232. DOI: 10.1038/s41477-022-01100-6
- Chandra P., Enespa, Singh R., Arora P. K. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review, Microbial Cell Factories. 2020. Vol. 1. P. 1–42. DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8
- Chatterjee N., Perrimon N. What fuels the fly: Energy metabolism in *Drosophila* and its application to the study of obesity and diabetes, Science Advances. 2021. Vol. 7 (24). P. eabg4336. DOI: 10.1126/sciadv.abg4336
- Chattopadhyay D., Thirumurugan K. Longevity-promoting efficacies of rutin in high fat diet fed *Drosophila melanogaster*, Biogerontology. 2020. Vol. 5. P. 653–668. DOI: 10.1007/s10522-020-09882-y
- Cvetanović A., Zengin G., Zeković Z., Švarc-Gajić J., Ražić S., Damjanović A., Mašković P., Mitić M. Comparative in vitro studies of the biological potential and chemical composition of stems, leaves and berries *Aronia melanocarpa*'s extracts obtained by subcritical water extraction, Food Chem Toxicol. 2018. Vol. 121. P. 458–466. DOI: 10.1016/j.fct.2018.09.045
- Dhaouadi F., Bargougui A., Maamer S., Amri I., Msaad Guerfali M., Hamrouni L., Flamini G., Mejri N. Chemical composition and insecticidal activity of two Eucalyptus essential oils against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), Journal of Plant Diseases and Protection. 2023. Vol. 3. P. 483–493. DOI: 10.1007/s41348-022-00702-8
- Ferlemi A. V., Lamari F. N. Berry Leaves: An Alternative Source of Bioactive Natural Products of Nutritional and Medicinal Value, Antioxidants (Basel). 2016. Vol. 2. DOI: 10.3390/antiox5020017
- Fleming T. R., O'Fallon J. R., O'Brien P. C., Harrington D. P. Modified Kolmogorov-Smirnov Test Procedures with Application to Arbitrarily Right-Censored Data, Biometrics. 1980. Vol. 4. P. 607–625. DOI: 10.2307/2556114
- Foster N., Bhatti J. Forest Ecosystems: Nutrient Cycling, Encyclopedia of Soil Science. New York, 2006. P. 718–721.
- Gao G., Wan W., Zhang S., Redden D. T., Allison D. B. Testing for differences in distribution tails to test for differences in 'maximum' lifespan, BMC medical research methodology. 2008. Vol. 8 (1). P. 1–10. DOI: 10.1186/1471-2288-8-49
- Hänschke L., Heier C., Maya Palacios S. J., Özek H. E., Thiele C., Bauer R., Kühnlein R. P., Bülow M. H. *Drosophila* Lipase 3 Mediates the Metabolic Response to Starvation and Aging, Front Aging. 2022.

- Vol. 14 (3). P. 800153. DOI: 10.3389/fragi.2022.800153
- Han S. K., Kwon H. C., Yang J. S., Kim S., Lee S. J. V. OASIS portable: User-friendly offline suite for secure survival analysis, *Molecules and Cells*. 2024. Vol. 2. P. 100011. DOI: 10.1016/j.mocell.2024.100011
- Harrington D. P., Fleming T. R. A Class of Rank Test Procedures for Censored Survival Data, *Biometrika*. 1982. Vol. 3. P. 553–566. DOI: 10.2307/2335991
- Hart A. Mann-Whitney test is not just a test of medians: differences in spread can be important, *Bmj*. 2001. Vol. 7309. P. 391–393. DOI: 10.1136/bmj.323.7309.391
- Hertel A. G., Steyaert S. M., Zedrosser A., Mysterud A., Lodberg-Holm H. K., Gelink H. W., Kindberg J., Swenson J. E. Bears and berries: species-specific selective foraging on a patchily distributed food resource in a human-altered landscape, *Behav Ecol Sociobiol*. 2016. Vol. 70. P. 831–842. DOI: 10.1007/s00265-016-2106-2
- Hikal W. M., S. B. R., and Said-Al Ahl H. A. H. Botanical insecticide as simple extractives for pest control, *Cogent Biology*. 2017. Vol. 1. P. 1404274. DOI: 10.1080/23312025.2017.1404274
- Hupp J., Michael B., Kira W., and Williamson J. How are your berries? Perspectives of Alaska’s environmental managers on trends in wild berry abundance, *International Journal of Circumpolar Health*. 2015. Vol. 1. P. 28704. DOI: 10.3402/ijch.v74.28704
- Jurendić T., Ščetar M. Aronia melanocarpa Products and By-Products for Health and Nutrition: A Review, *Antioxidants*. 2021. Vol. 7. P. 1052.
- Krishna M. P., Mohan M. Litter decomposition in forest ecosystems: a review, *Energy, Ecology and Environment*. 2017. Vol. 4. P. 236–249. DOI: 10.1007/s40974-017-0064-9
- Kulling S. E., Rawel H. M. Chokeberry (*Aronia melanocarpa*) – A review on the characteristic components and potential health effects, *Planta Med*. 2008. Vol. 13. P. 1625–1634. DOI: 10.1055/s-0028-1088306
- Lee J. E., Kim G. S., Park S., Kim Y. H., Kim M. B., Lee W. S., Jeong S. W., Lee S. J., Jin J. S., Shin S. C. Determination of chokeberry (*Aronia melanocarpa*) polyphenol components using liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Overall contribution to antioxidant activity, *Food Chemistry*. 2014. Vol. 146. P. 1–5. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.029
- Leri M., Scuto M., Ontario M. L., Calabrese V., Calabrese E. J., Bucciantini M., Stefani M. Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms, *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21. P. 1–39.
- Livak K. J., Schmittgen T. D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT Method, *Methods*. 2001. Vol. 4. P. 402–408. DOI: 10.1006/meth.2001.1262
- Lopez-Ortiz C., Gracia-Rodriguez C., Belcher S., Flores-Iga G., Das A., Nimmakayala P., Balagurusamy N., Reddy U. K. *Drosophila melanogaster* as a Translational Model System to Explore the Impact of Phytochemicals on Human Health, *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 17. P. 13365.
- Marron M. T., Markow T. A., Kain K. J., Gibbs A. G. Effects of starvation and desiccation on energy metabolism in desert and mesic *Drosophila*, *J Insect Physiol*. 2003. Vol. 3. P. 261–270. DOI: 10.1016/s0022-1910(02)00287-1
- Mehta C. R., Patel N. R., Tsiatis A. A. Exact significance testing to establish treatment equivalence with ordered categorical data, *Biometrics*. 1984. Vol. 3. P. 819–825.
- Minekus M., Alminger M., Alvito P., Ballance S., Bohn T., Bourlieu C., Carrière F., Boutrou R., Corredig M., Dupont D., Dufour C., Egger L., Golding M., Karakaya S., Kirkhus B., Le Feunteun S., Lesmes U., Macierzanka A., Mackie A., Marze S., McClements D. J., Ménard O., Recio I., Santos C. N., Singh R. P., Vegarud G. E., Wickham M. S., Weitschies W., Brodkorb A. A standardised static in vitro digestion method suitable for food - an international consensus, *Food Funct*. 2014. Vol. 6. P. 1113–1124. DOI: 10.1039/c3fo60702j
- Moskalev A., Chernyagina E., de Magalhães J. P., Barardo D., Thoppil H., Shaposhnikov M., Budovsky A., Fraifeld V. E., Garazha A., Tsvetkov V., Bronovitsky E., Bogomolov V., Scerbacov A., Kuryan O., Gurinovich R., Jellen L. C., Kennedy B., Mamoshina P., Dobrovolskaya E., Aliper A., Kaminsky D., Zhavoronkov A. Geroprotectors.org: a new, structured and curated database of current therapeutic interventions in aging and age-related disease, *Aging (Albany NY)*. 2015. Vol. 9. P. 616–628. DOI: 10.18632/aging.100799
- Nanda A., Mahapatra A., Mohapatra B., mahapatra a. Multiple comparison test by Tukey’s honestly significant difference (HSD): Do the confident level control type I error, *International Journal of Applied Mathematics and Statistics*. 2021. Vol. 6 (1). P. 59–65. DOI: 10.22271/math.2021.v6.i1a.636
- Negreanu-Pirjol B. S., Oprea O. C., Negreanu-Pirjol T., Roncea F. N., Prelipcean A. M., Craciunescu O., Iosageanu A., Artem V., Ranca A., Motelica L., Lepadatu A. C., Cosma M., Popoviciu D. R. Health Benefits of Antioxidant Bioactive Compounds in the Fruits and Leaves of *Lonicera caerulea* L. and *Aronia melanocarpa* (Michx.) Elliot, *Antioxidants (Basel)*. 2023. Vol. 12 (4). DOI: 10.3390/antiox12040951

- Owczarek K., Sosnowska D., Kajszyk D., Lewandowska U. Evaluation of phenolic composition, antioxidant and cytotoxic activity of *Aronia melanocarpa* leaf extracts, *J. Physiol Pharmacol.* 2022. Vol. 73 (2). P. 233–243. DOI: 10.26402/jpp.2022.2.06
- Platonova E. Y., Shaposhnikov M. V., Lee H. Y., Lee J. H., Min K. J., Moskalev A. Black chokeberry (*Aronia melanocarpa*) extracts in terms of geroprotector criteria, *Trends in Food Science & Technology.* 2021. Vol. P. 570–584. DOI: 10.1016/j.tifs.2021.06.020
- Platonova E. Y., Zemskaya N. V., Shaposhnikov M. V., Golubev D. A., Kukuman D. V., Pakshina N. R., Ulyasheva N. S., Punegov V. V., Patov S. A., Moskalev A. Geroprotective effects of *×Sorbaronia mitschurinii* fruit extract on *Drosophila melanogaster*, *Journal of Berry Research.* 2022. Vol. 1. P. 73–92. DOI: 10.3233/jbr-211502
- Platonova E. Yu. Golubev D. A. Zemskaya N. V. Mihaylova D. V. Pakshina N. R. Timusheva N. S. Shaposhnikov M. V. Moskalev A. A. The effect of extracts of leaves and berries of *Aronia Michurin* (*×Sorbaronia mitschurinii*) on the lifespan of *Drosophila melanogaster*, *Principy ekologii.* 2025. No. 2. P. 71–83. DOI: 10.15393/j1.art.2025.16042
- Proshkina E., Koval L., Platonova E., Golubev D., Ulyasheva N., Babak T., Shaposhnikov M., Moskalev A. Polyphenols as Potential Geroprotectors, Antioxidants & Redox Signaling. 2024. Vol. 40 (7–9). P. 564–593. DOI: 10.1089/ars.2023.0247
- Proshkina E., Plyusnin S., Babak T., Lashmanova E., Maganova F., Koval L., Platonova E., Shaposhnikov M., Moskalev A. Terpenoids as Potential Geroprotectors, Antioxidants. 2020. Vol. 9 (6). DOI: 10.3390/antiox9060529
- Rajput S., Sharma P., Malviya R. Utilization of Herbal Components as Insecticidal and Repellent Effects, *Recent Adv Food Nutr Agric.* 2023. Vol. 3. P. 144–154. DOI: 10.2174/2772574x14666230804102104
- Rera M., Clark R. I., Walker D. W. Intestinal barrier dysfunction links metabolic and inflammatory markers of aging to death in *Drosophila*, *Proc Natl Acad Sci USA.* 2012. Vol. 52. P. 21528–21533. DOI: 10.1073/pnas.1215849110
- Ripple W. J., Beschta R. L., Fortin J. K., Robbins C. T. Wolves trigger a trophic cascade to berries as alternative food for grizzly bears, *Journal of Animal Ecology.* 2015. Vol. 3. P. 652–654. DOI: 10.1111/1365-2656.12339
- Rizzo R., Lo Verde G., Sinacori M., Maggi F., Cappellacci L., Petrelli R., Vittori S., Morshedloo M. R., Fofie N. G. B. Y., Benelli G. Developing green insecticides to manage olive fruit flies? Ingestion toxicity of four essential oils in protein baits on *Bactrocera oleae*, *Industrial Crops and Products.* 2020. Vol. P. 111884. DOI: 10.1016/j.indcrop.2019.111884
- Saracila M., Untea A. E., Oancea A. G., Varzaru I., Vlaicu P. A. Comparative Analysis of Black Chokeberry (*Aronia melanocarpa* L.) Fruit, Leaves, and Pomace for Their Phytochemical Composition, Antioxidant Potential, and Polyphenol Bioaccessibility, *Foods.* 2024. Vol. 13 (12). P. 1856. DOI: 10.3390/foods13121856
- Shaposhnikov M. V., Guvatova Z. G., Zemskaya N. V., Koval L. A., Schegoleva E. V., Gorbunova A. A., Golubev D. A., Pakshina N. R., Ulyasheva N. S., Solovov I. A., Bobrovskikh M. A., Gruntenko N. E., Menshanov P. N., Krasnov G. S., Kudryavseva A. V., Moskalev A. A. Molecular mechanisms of exceptional lifespan increase of *Drosophila melanogaster* with different genotypes after combinations of pro-longevity interventions, *Commun Biol.* 2022. Vol. 1. P. 566. DOI: 10.1038/s42003-022-03524-4
- Simões M., Salles B., Duarte S., Silva M., Viana A., Moraes G., Figueiredo S., Ferreira E., Rodrigues M., Paula F. Leaf extract of *Coffea arabica* L. reduces lipid peroxidation and has anti-platelet effect in a rat dyslipidemia model, *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.* 2022. Vol. 58 (1). P. 1–13. DOI: 10.1590/s2175-97902022e19562
- Staats S., Lüersen K., Wagner A. E., Rimbach G. *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research, *J Agric Food Chem.* 2018. Vol. 15. P. 3737–3753. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b05900
- Thi N. D., Hwang E. S. Bioactive Compound Contents and Antioxidant Activity in *Aronia* (*Aronia melanocarpa*) Leaves Collected at Different Growth Stages, *Prev Nutr Food Sci.* 2014. Vol. 3. P. 204–212. DOI: 10.3746/pnf.2014.19.3.204
- Toprak U. The Role of Peptide Hormones in Insect Lipid Metabolism, *Front Physiol.* 2020. Vol. 11. P. 434. DOI: 10.3389/fphys.2020.00434
- Wang C., Li Q., Redden D. T., Weindruch R., Allison D. B. Statistical methods for testing effects on «maximum lifespan», *Mech Ageing Dev.* 2004. Vol. 9. P. 629–632. DOI: 10.1016/j.mad.2004.07.003
- Wang S. Y., Lin H. S. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage, *J. Agric. Food Chem.* 2000. Vol. 2. P. 140–146. DOI: 10.1021/jf9908345
- Williams B. K. The use of analysis of variance procedures in biological studies, *Applied Stochastic Models and Data Analysis.* 1987. Vol. 4. P. 207–226. DOI: 10.1002/asm.3150030403
- Wu Q., Yu G., Park S. J., Gao Y., Ja W. W., Yang M. Excreta Quantification (EX-Q) for Longitudinal Measurements

of Food Intake in *Drosophila*, iScience. 2020. Vol. 1. P. 100776. DOI: 10.1016/j.isci.2019.100776
Zhao Y, Y., Li Z, T., Xu T., Lou A, r. Leaf litter decomposition characteristics and controlling factors across two contrasting forest types, Journal of Plant Ecology. 2022. Vol. 6. P. 1285–1301. DOI: 10.1093/jpe/rtac073