

БИОГЕННЫЕ АМИНЫ КАК НЕЙРОГОРМОНЫ РЕГУЛИРУЮТ РЕПРОДУКТИВНУЮ ФУНКЦИЮ *Drosophila*¹

© 2007 г. И. Ю. Раушенбах, Е. К. Карпова, Н. Е. Груntenко,
З. В. Сапрыкина, Л. В. Шумная, Н. В. Фаддеева

Институт цитологии и генетики СО РАН

630090 Новосибирск, пр-т Академика Лаврентьева, д. 10

E-mail: iraushen@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 10.02.06 г.

Окончательный вариант получен 19.06.06 г.

Исследовано влияние экспериментального повышения содержания октопамина и дофамина на уровень деградации ювенильного гормона, оогенез и плодовитость мух дикого типа *D. virilis*. Установлено, что кормление мух октопамином приводит к существенному снижению уровня деградации (повышению титра) ювенильного гормона у молодых и половозрелых самок, но не у самцов; значительно снижает число вителлогенических (8–10-х стадий) и зрелых (14-й стадии) ооцитов; резко снижает плодовитость особей. Показано, что кормление мух дофамином снижает деградацию (повышает титр) ювенильного гормона у молодых и повышает ее (снижает титр ювенильного гормона) у половозрелых самок дикого типа, а также снижает плодовитость мух дикого типа до уровня, характерного для линии *D. virilis* с мутацией, удваивающей эндогенный уровень дофамина. Обсуждается возможный механизм влияния этих аминов как нейрогормонов на репродуктивную функцию *Drosophila* и делается заключение о том, что снижение плодовитости самок при повышении уровня аминов связано, по-видимому, с повышением титра экдистероидов, которое вызывается возрастающим в результате снижения деградации титром ювенильного гормона.

Ключевые слова: репродуктивная функция, ювенильный гормон, октопамин, дофамин, *Drosophila*.

Одними из основных биогенных аминов насекомых являются октопамин (ОА) и дофамин (ДА), функционирующие в следующих качествах: 1) как нейротрансмиттеры, осуществляющие передачу нервного импульса в постсинаптической щели, 2) как нейромодуляторы, оказывающие локальное влияние на близлежащие клетки в ЦНС, изменяя эффект нейротрансмиттера, и 3) как нейрогормоны, переносимые током гемолимфы и действующие на больших расстояниях (см. обзоры: Evans, 1985; Roeder, 1999).

В ряде работ продемонстрировано, что в качестве нейромодулятора ОА участвует в регуляции репродуктивной функции *Drosophila*, контролируя процессы овуляции и откладки яиц (Monastirioti et al., 1996; Monastirioti, 2003; Cole et al., 2005). Так, самки *D. melanogaster* линии $T\beta h^{nM18}$, лишённые ОА в результате нуль-мутации гена тирамин- β -гидроксилазы ($T\beta h$), конвертирующей тирамин в ОА, накапливают в яичниках полностью развитые яйца, но не выделяют их в яйцевод. Причиной этого является неспособность мускулов яйцевода к сокращению из-за нарушения нейромышечной

передачи в отсутствие ОА (Monastirioti et al., 1996; Monastirioti, 2003). Самки другой линии *D. melanogaster* с мутацией гена *dTdc2*, контролирующего синтез нейтральной формы тирозиндекарбоксилазы, первого фермента в цепи синтеза ОА, утрачивают нейтральные тирамин и октопамин и не способны отложить полностью развитые яйца, хотя и выделяют их в яйцевод (Cole et al., 2005).

В то же время ОА и ДА как нейрогормоны, по-видимому, также должны влиять на репродуктивную функцию насекомых, поскольку показано, что экспериментальные (Lafon-Cazal, Baehr, 1988; Thompson et al., 1990; Woodring, Hoffmann, 1994; Kaatz et al., 1994; Rachinsky, 1994; Granger et al., 1996) либо вызванные мутацией (Gruntenko et al., 2000) изменения уровня ОА или ДА приводят к изменениям интенсивности синтеза и деградации гонадотропного ювенильного гормона (ЮГ). Так, установлено, что экзогенный ОА ингибирует *in vitro* синтез ЮГ и выделение его из *corpora allata* (СА) у сверчка двупятнистого *Gryllus bimaculatus* и у самок таракана *Diploptera punctata* (Thompson et al., 1990; Woodring, Hoffmann, 1994). В то же время ОА стимулирует *in vitro* секрецию ЮГ в СА у личинок и имаго рабочих пчел *Apis*

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (проект № 04-04-48273) и Программой Президиума СО РАН по поддержке молодых ученых.

mellifera и у самцов саранчи перелетной *Locusta migratoria* (Lafon-Cazal, Baehr, 1988; Kaatz et al., 1994; Rachinsky, 1994). Такое различное воздействие экзогенного ОА на СА может быть связано как с существованием межвидовых различий, так и с разным действием амина на систему ЮГ у разных полов и на разных стадиях развития. Существование онтогенетических различий в контроле синтеза ЮГ показано для ДА: у личинок табачного бражника *Manduca sexta* ДА стимулирует *in vitro* биосинтез гормона в СА в первые 2-е сут последней личиночной стадии, но ингибирует с 3-х по 6-е сут в начале предкуколичного периода (Granger et al., 1996). Существуют также свидетельства влияния ОА на продукцию другого гонадотропного гормона, 20-гидроксиэкдизона (20Э). Хирашима с соавторами (Hirashima et al., 1999b) продемонстрировали, что экзогенный ОА влияет на синтез проторакальной железой экдистероидов *in vitro* личинок тутового шелкопряда *Bombyx mori* последнего, 5-го, возраста.

В наших исследованиях (Gruntenko et al., 2000) обнаружено, что у молодых и зрелых, лишенных ОА, самок линии $T\beta^{nM18}$ *D. melanogaster* резко повышен уровень деградации ЮГ. Мы также показали (Раушенбах и др., 2001), что мутация *ebony*, удваивающая уровень ДА у *D. melanogaster*, приводит к снижению деградации ЮГ у молодых самок и к его повышению у половозрелых. Это привело нас к заключению о том, что ОА и ДА регулируют *in vivo* метаболизм ЮГ и тем самым как нейрого르몬ы могут регулировать репродуктивную функцию *Drosophila* (Грунтенко, Раушенбах, 2004).

Здесь мы верифицируем это заключение, исследуя влияние экзогенных ОА и ДА на деградацию ЮГ и репродукцию особей дикого типа *D. virilis*, и показываем, что экспериментальное повышение уровней ОА или ДА приводит к резкому снижению плодовитости, вызываемому, по-видимому, возрастанием уровня экдистероидов у самок вследствие повышения титра ЮГ (снижения его деградации).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах использованы две линии *D. virilis*: 101 дикого типа и 147, несущая мутации *brick*, *broken* и *detached* в хромосоме 2, температурочувствительную личиночную леталь в хромосоме 6 (Rauschenbach et al., 1984) и X-сцепленную мутацию, удваивающую уровень ДА (Rauschenbach et al., 1993).

Культуры, выращенные на стандартной питательной среде при 25°C (Rauschenbach et al., 1987) и плотности 20 личинок на 7 мл среды, синхронизировали дважды, по вылуплению личинок и вылету имаго.

ЮГ-гидролизующую активность измеряли, используя модифицированный метод Хэммока и Спаркса (Hammock, Sparks, 1977). Мух гомогенизировали на льду в 30 мкл 0.1 М натрий-фосфатного буфера, pH 7.4. Гомогенаты центрифугировали 5 мин при 13030 g, алиquotы супернатанта (10 мкл) использовали для проведения реакции. Время реакции, экспериментально определенное ранее (Rauschenbach et al., 1995), – 30 мин. В качестве субстрата использовали смесь (12 500 распадов в мин) хроматографически очищенного, меченого тритием по С-10 ЮГ-III (удельная активность 44×10^{10} Бк/ммоль, “NEN Research Products”, США) и 0.1 мкг немеченого ЮГ-III (“Fluka”, Швейцария). Реакцию проводили в 100 мкл инкубационной смеси (0.1 М натрий-фосфатный буфер, pH 7.4, содержащий 0.5 мМ фенилтиомочевину) при 37°C. Реакцию останавливали добавлением 50 мкл водного раствора, содержащего 5%-ный аммиак и 50%-ный метанол (V:V). Негидролизированный ЮГ экстрагировали гептаном (250 мкл). Пробирки энергично встряхивали и центрифугировали 10 мин при 13030 g. Алиquotы (100 мкл) водной и гептановой фаз помещали в вials с диоксидным сцинтилятором и измеряли радиоактивность с помощью счетчика Rackbeta 1209 (“Vellag”, Финляндия).

Анализ плодовитости осуществляли следующим образом: в опытных сериях мух сразу после вылета помещали в стаканы (по 3 самки и 3 самца), дно и 1 см стенок которых покрывали фильтровальной бумагой, пропитанной 0.5 мл раствора, содержащего 0.5% сахарозы, 0.2% дрожжей и по 5 мг ОА либо ДА. В контрольных сериях ОА и ДА в раствор не добавляли. Ежедневно мух переносили в новые стаканы (величина выборки: 15–20 стаканов при обработке ДА и 20–30 – при обработке ОА). Плодовитость определяли как число яиц, отложенных самкой в течение 1 сут.

Для определения стадий развития ооцитов яичники иссекали в растворе Рингера, мМ (130 NaCl, 5 KCl, 2 CaCl₂, 50 Na₂HPO₄, pH 7.0) и фиксировали 4%-ным раствором параформальдегида (“Sigma”, США) в PBS, мМ (2 KH₂PO₄, 10 Na₂HPO₄, 137 NaCl, 2.7 KCl, pH 7.4; 1 мл на 10 пар яичников) в течение 20 мин, равномерно перемешивая. Промывали два раза по 5 мин в PBS, после чего яичники разделяли на отдельные овариолы, из которых готовили препараты (одна пара яичников на препарат) для исследования с помощью фазового контраста на микроскопе Zeiss Axioskop 2 Plus, Германия. Стадии ооцитов определяли по Кингу (King, 1970) для 9 пар яичников в контрольной группе и 11 пар в группе, которую кормили ОА.

Достоверность результатов оценивали, используя *t*-критерий Стьюдента.

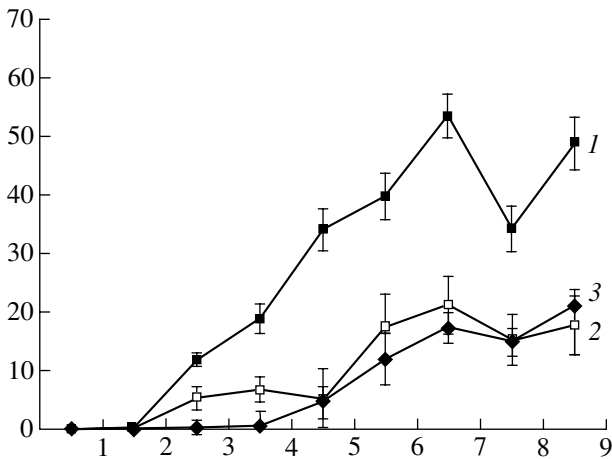


Рис. 1. Влияние экспериментального повышения уровня дофамина (ДА) на плодовитость *D. virilis* (1 – линия 101, контроль; 2 – линия 101, обработка ДА; 3 – линия 147, контроль). По оси абсцисс – сут после вылета, по оси ординат – плодовитость, число яиц/самку.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Влияние экспериментального увеличения уровня ДА на плодовитость мух дикого типа. На рис. 1 представлены результаты эксперимента, в котором оценено влияние экзогенного ДА на плодовитость мух дикого типа (линия 101). Хорошо видно, что повышение содержания ДА вызывает существенное снижение плодовитости (различия с контролем достоверны при $p < 0.01$ на 3, 4 и 8-е сут после вылета и при $p < 0.001$ – в остальные сут). Видно также, что начиная с 5-х сут после вылета плодовитость мух линии 101, обработанных ДА, становится такой же, как у особей линии 147 с удвоенным в результате мутации эндогенным уровнем ДА.

Влияние экспериментального увеличения уровня ОА на плодовитость мух дикого типа.

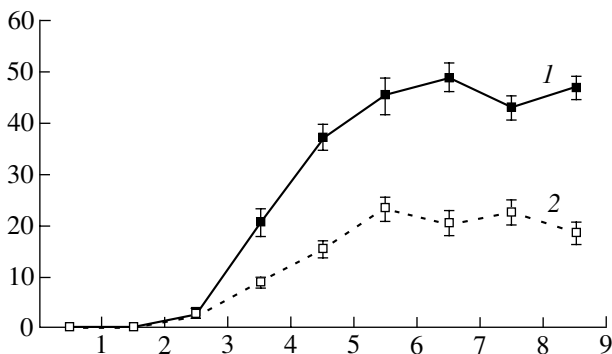


Рис. 2. Влияние экспериментального повышения уровня октопамина (ОА) на плодовитость особей дикого типа линии 101 *D. virilis* (1 – контроль; 2 – обработка ОА). По оси абсцисс и ординат см. на рис. 1.

На рис. 2 показаны результаты сравнения плодовитости особей линии 101, которым в течение 9 сут в питательную среду добавляли ОА, и мух контрольной группы. Хорошо видно, что кормление ОА не влияет на начало откладки яиц. Однако уже со следующих суток после начала откладки (на 4-е сут после вылета) экспериментальное повышение уровня ОА резко снижает плодовитость особей (различия между обработанными ОА и контрольными мухами достоверны при $p < 0.001$ для всех сут эксперимента).

Влияние экспериментального увеличения уровня ОА на процесс оогенеза самок дикого типа. Для того чтобы выяснить причину падения плодовитости мух с повышенным уровнем ОА, мы изучили распределение ооцитов по стадиям у 6-суточных самок линии 101, контрольных и кормленных в течение 6 сут ОА. Полученные результаты представлены на рис. 3. Видно, что у самок с повышенным уровнем ОА снижено число вителлогенических ооцитов стадий 8–10 (различия с контролем достоверны при $p < 0.05$ для стадии 8 и при $p < 0.001$ для стадий 9, 10). Также существенно снижено число зрелых, готовых к оплодотворению и откладке, ооцитов 14-й стадии (различия с контролем достоверны при $p < 0.001$).

Деградация ЮГ у особей дикого типа при экспериментальном увеличении уровня ДА или ОА. На рис. 4, а представлены результаты измерения ЮГ-гидролизующей активности молодых (2-су-

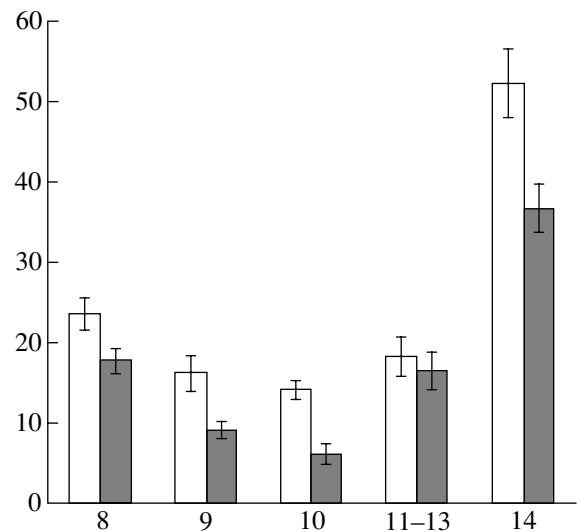


Рис. 3. Влияние экспериментального повышения уровня октопамина (ОА) на число ооцитов стадий 8–14 в яичниках 6-суточных самок линии 101 *D. virilis*. (Число ооцитов каждой стадии определено для 11 пар яичников в экспериментальной группе и для 9 пар – в контрольной.) По оси абсцисс – стадии развития ооцитов, по оси ординат – число ооцитов/яичник. Ооциты: (□) – контрольные, (■) – обработанные ОА.

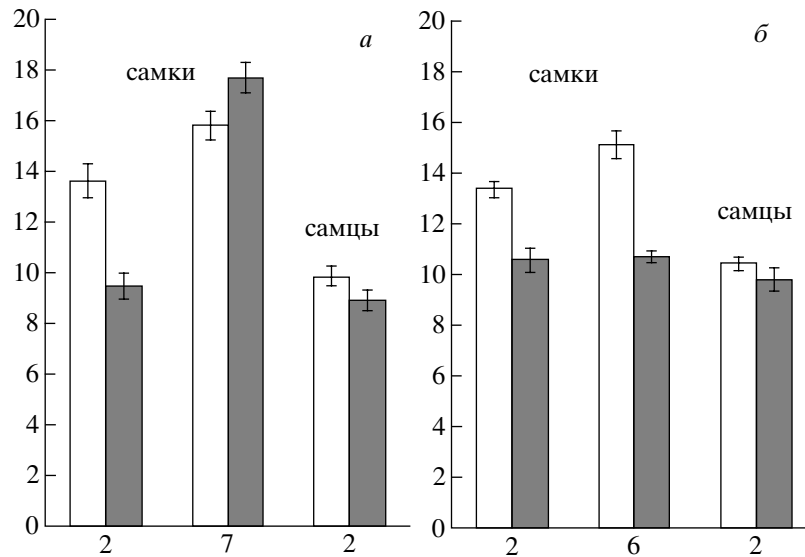


Рис. 4. Влияние кормления дофамином (а) и октопамином (б) на уровень деградации ювенильного гормона (ЮГ) у 2-суточных самок и самцов и 6–7-суточных самок линии 101 *D. virilis*. По оси абсцисс – возраст мух, сут; по оси ординат – ЮГ-гидролизующая активность, пмоль/мин/муху. Мухи: (□) – контрольные, (■) – кормленные ДА и ОА соответственно. Каждое значение среднее из 8–12 (а) и 5–8 (б) измерений соответственно.

точных) и половозрелых (7-суточных) самок и 2-суточных самцов линии 101, кормленных ДА, и контрольных. Очевидно, что повышение содержания ДА вызывает у молодых самок падение уровня деградации ЮГ (различия с контролем достоверны при $p < 0.001$), а у половозрелых – его повышение (различия с контролем достоверны при $p < 0.05$). Вместе с тем повышение содержания ДА не влияет на уровень деградации ЮГ у самцов.

На рис. 4, б продемонстрировано влияние повышенного содержания ОА на уровень деградации ЮГ у молодых (2-суточных) и половозрелых (6-суточных) самок и 2-суточных самцов линии 101. Хорошо видно, что повышение уровня ОА, в отличие от ДА, приводит и у молодых, и у зрелых самок к снижению ЮГ-гидролизующей активности (различия с контролем достоверны при $p < 0.001$ для обоих возрастов). У самцов, обработанных ОА так же, как и ДА, уровень деградации ЮГ не отличается от контроля.

ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные в настоящей работе результаты подтверждают сделанное нами ранее (Груntenко, Раушенбах, 2004) предположение о том, что биогенные амины ОА и ДА способны влиять на репродуктивную функцию *Drosophila* в качестве нейрого르몬ов. В самом деле, обнаруженное нами снижение плодовитости особей дикого типа под влиянием экспериментального повышения уровней ОА и ДА (рис. 1, 2) вряд ли может быть связано с их нейромодуляторной функцией, по-

скольку отсутствие овуляции (Monastiriotti et al., 1996; Monastiriotti, 2003) или неспособность к откладке яиц (Cole et al., 2005), как мы уже отмечали, связаны не с повышением, а с резким снижением уровня амина.

Ранее мы показали, что ОА и ДА как нейрого르몬ы влияют на метаболизм ЮГ. Так, мы обнаружили, что у молодых и зрелых, лишенных ОА, мутантных самок *D. melanogaster* резко повышен уровень деградации ЮГ (Gruntenko et al., 2000), на основании чего заключили, что в норме ОА ингибирует деградацию ЮГ у самок *Drosophila*. Здесь мы получили подтверждение этому (рис. 4, б): у кормленных ОА самок снижена деградация ЮГ (на 21 и 29% у молодых и зрелых самок соответственно). Ранее мы также показали, что у молодых самок с удвоенным в результате мутации содержанием ДА (линии *ste* и *ebony D. melanogaster*) уровень деградации ЮГ значительно ниже, а у половозрелых – выше, чем у дикого типа (Раушенбах и др., 2001; Груntenко, Раушенбах, 2004), и предположили, что в норме ДА ингибирует деградацию ЮГ у первых и стимулирует – у вторых. Мы подтвердили это предположение (рис. 4, а): ЮГ-гидролизующая активность в наших экспериментах у молодых, кормленных ДА самок снижена на 29% и повышена на 11% у зрелых.

Интересно отметить, что повышение содержания ОА или ДА не влияет на уровень деградации ЮГ у самцов, что свидетельствует в пользу сделанного нами ранее (Gruntenko et al., 2003b) предположения о том, что ЮГ не играет столь суще-

ственной роли в регуляции воспроизводительной функции у самцов *Drosophila*, как у самок.

Известно, что у самок дикого типа *Drosophila* регуляция синтеза и деградации ЮГ находится в противофазе: синтез и титр гормона выше у молодых, чем у половозрелых (Bownes, Rembold, 1987; Altaratz et al., 1991), а деградация ЮГ, напротив, ниже у молодых, чем у половозрелых самок (Khlebodarova et al., 1996; Gruntenko et al., 2000, 2003b). Показано также, что самки мутантной линии *apterous*^{56f} *D. melanogaster* имеют резко сниженный уровень синтеза ЮГ (Altaratz et al., 1991) и резко повышенный уровень деградации ЮГ (Gruntenko et al., 2003b). Исходя из этого мы предположили (Gruntenko et al., 2003b), что у взрослых самок *Drosophila*, во-первых, синтез и деградация ЮГ находятся под общим контролем и, во-вторых, факторы, стимулирующие синтез гормона, одновременно ингибируют его деградацию и vice versa. Это предположение было подтверждено экспериментом, в котором показано, что аппликация ЮГ самкам *D. virilis* вызывает резкое снижение уровня деградации ЮГ (Rauschenbach et al., 2004). Учитывая вышесказанное, резонно предположить, что экспериментальное повышение содержания ОА или ДА не только снижает деградацию ЮГ у самок *Drosophila* (рис. 4), но и повышает его титр.

Возникает вопрос: может ли обнаруженное снижение плодовитости при кормлении мух ДА или ОА (рис. 1, 2) вызываться непосредственно изменениями в метаболизме ЮГ? Ранее мы показали, что повышение уровня ЮГ (снижение его деградации не менее чем на 30%) оказывает влияние на репродукцию *D. virilis*: вызывает накопление яиц 14-й стадии и останавливает их откладку. Мы наблюдали этот феномен при аппликации ЮГ (Rauschenbach et al., 2004) (деградация гормона падала на 42%), при голодовом (Rauschenbach et al., 2004) и тепловом (Gruntenko et al., 2003a) стрессах (деградация ЮГ падала на 40 и 41% соответственно), при резком падении содержания ДА (деградация ЮГ у половозрелых самок падала на 77%) (Gruntenko et al., 2005b). Мы не наблюдали остановки откладки яиц при экспериментальном повышении титра 20Э (Gruntenko et al., 2005a) (деградация ЮГ падала на 20%). Таким образом, обнаруженные в настоящей работе изменения в репродуктивной функции при повышении уровня ДА или ОА (см. рис. 1, 2) не могут быть вызваны непосредственно изменениями в метаболизме ЮГ, поскольку уровень его деградации снижается не более чем на 21–29% при обработке самок ОА и ДА (см. выше). Это хорошо согласуется с результатами, полученными при изучении оогенеза у 6-суточных, кормленных ОА самок: у них не только не наблюдается накопления ооцитов стадии 14, но, напротив, снижается число зрелых ооцитов (рис. 3). Снижение числа вителлогениче-

ских ооцитов стадий 8–10 (рис. 3) у этих самок также не может быть непосредственным следствием изменений в метаболизме ЮГ. Действительно, ранее мы показали, что, хотя экспериментальное повышение титра ЮГ (аппликация гормона) вызывает у *Drosophila* прекращение откладки яиц в течение 1 сут, оно не приводит к снижению плодовитости после ее возобновления (Rauschenbach et al., 2004), т.е. не вызывает снижения числа вителлогенических ооцитов.

Вместе с тем установлено, что повышение уровня 20Э при стрессе (Gruntenko et al., 2003a) или при обработке мух экзогенным 20Э (Soller et al., 1999) вызывает деградацию вителлогенических ооцитов стадий 9, 10 и снижение плодовитости *Drosophila* (Gruntenko et al., 2005a). Повышение титра 20Э в нашей работе может быть вызвано возрастающим под влиянием ОА или ДА уровнем ЮГ у молодых самок. В самом деле, показано, что ЮГ стимулирует синтез экдистероидов в яичниках *Drosophila* (Postlethwait, Parker, 1987; Richard et al., 1998). Не исключено, однако, что помимо опосредованной через систему ЮГ регуляции титра 20Э биогенные амины могут непосредственно влиять на уровень 20Э. Такую возможность предполагают данные Хирашимы с соавторами (Hirashima et al., 1999a), демонстрирующие, что экзогенный ОА влияет на синтез экдистероидов *in vitro* проторакальной железой личинок тутового шелкопряда *Bombyx mori*.

Необходимо отметить, что снижение числа ооцитов стадии 14 у обработанных ОА самок (рис. 3) может быть как следствием 20Э-индуцированной деградации вителлогенических ооцитов (стадии 8–10), так и результатом более интенсивной овуляции в результате стимуляции мускулов яйцевода повышенным уровнем ОА.

Итак, можно заключить, что биогенные амины не только как нейромодуляторы (Monastirioti et al., 1996; Monastirioti, 2003; Cole et al., 2005), но и как нейрогормоны регулируют репродуктивную функцию *Drosophila*, влияя на метаболизм гонадотропинов.

Авторы благодарят профессора В.Г. Митрофанова (Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН, Москва) за предоставление линий 101 и 147 *D. virilis*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Груntenко Н.Е., Раушенбах И.Ю. Адаптивное значение генов, контролирующих уровень биогенных аминов *Drosophila* // Генетика. 2004. Т. 40. С. 869–876.
- Раушенбах И.Ю., Груntenко Н.Е., Ченцова Н.А. и др. Взаимодействие гормонов в контроле репродуктивной функции самок *Drosophila* в условиях стресса генетически детерминировано // Там же. 2001. Т. 37. С. 1243–1250.

- Altaratz M., Applebaum Sh.W., Richard D.S. et al. Regulation of juvenile hormone synthetis in wild-type and *apterous* mutant *Drosophila* // Mol. Cell. Endocrinol. 1991. V. 81. P. 205–216.
- Bownes M., Rembold H. The titre of juvenile hormone during the pupal and adult stage of the life cycle of *Drosophila melanogaster* // Europ. J. Biochem. 1987. V. 164. P. 709–712.
- Cole Sh.H., Carney G.I., McClung C.A. et al. Two functional but non-complementing *Drosophila* tyrosine decarboxylase genes: distinct roles for neural tiramine and octopamine in female fertility // J. Biol. Chem. 2005. V. 280. 14948–14955.
- Evans P.D. Octopamine // Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology / Eds. Kerkut G.A., Gilbert L.I. V. 11. N. Y.: Pergamon Press, 1985. P. 499–538.
- Granger N.A., Sturgis S.L., Ebersohl R. et al. Dopaminergic control of corpora allata activity in the larval tobacco hornworm, *Manduca sexta* // Arch. Insect Biochem. Physiol. 1996. V. 32. P. 449–466.
- Gruntenko N.E., Wilson T.G., Monastirioti M., Rauschenbach I.Yu. Stress-reactivity and juvenile hormone degradation in *Drosophila melanogaster* strains having stress-related mutations // Insect Biochem. Mol. Biol. 2000. V. 30. P. 775–783.
- Gruntenko N.E., Bownes M., Terashima J. et al. Environmental stress affects oogenesis differently in wild type and a *Drosophila virilis* mutant with altered juvenile hormone and 20-hydroxyecdysone levels // Insect Mol. Biol. 2003a. V. 12. P. 393–404.
- Gruntenko N.E., Chentsova N.A., Andreenkova E.V. et al. Stress response in a juvenile hormone deficient *Drosophila melanogaster* mutant *apterous*^{56f} // Ibid. 2003b. V. 12. P. 353–363.
- Gruntenko N.E., Karpova E.K., Adonyeva N.V. et al. Juvenile hormone, 20-hydroxyecdysone and dopamine interaction in *Drosophila virilis* reproduction under normal and nutritional stress conditions // J. Insect Physiol. 2005a. V. 51. P. 417–425.
- Gruntenko N.E., Karpova E.K., Alekseev A.A. et al. Effects of dopamine on juvenile hormone metabolism and fitness in *Drosophila virilis* // Ibid. 2005b. V. 51. P. 959–968.
- Hammock B.D., Sparks T.C. A rapid assay for insect juvenile hormone esterase activity // Anal. Biochem. 1977. V. 82. P. 573–579.
- Hirashima A., Suetsugu E., Hirokado S. et al. Effect of octopamine on the activity of juvenile-hormone esterase in the silkworm *Bombyx mori* and the red flour beetle *Tribolium freemani* // Gen. Comp. Endocrinol. 1999a. V. 116. P. 373–381.
- Hirashima A., Hirokado S., Ohta H. et al. Titres of biogenic amines and ecdysteroids: effect of octopamine on the production of ecdysteroids in the silkworm *Bombyx mori* // J. Insect Physiol. 1999b. V. 45. P. 843–851.
- Kaatz H., Eichmuller S., Kreissl S. Stimulatory effect of octopamine on juvenile hormone biosynthesis in honey bees (*Apis mellifera*): physiological and immunocytochemical evidence // Ibid. 1994. V. 40. P. 856–872.
- Khlebodarova T.M., Gruntenko N.E., Grenback L.G. et al. A comparative analysis of juvenile hormone metabolising enzymes in two species of *Drosophila* during development // Insect Biochem. Mol. Biol. 1996. V. 26. P. 829–835.
- King R.C. Ovarian development in *Drosophila melanogaster*. N. Y.: Acad. Press, 1970. 270 p.
- Lafon-Cazal M., Baehr J.C. Octopaminergic control of corpora allata activity in an insect // Experientia. 1988. V. 44. P. 895–896.
- Monastirioti M. Distinct octopamine cell population residing in the CNS abdominal ganglion controls ovulation in *Drosophila melanogaster* // Devel. Biol. 2003. V. 264. P. 38–49.
- Monastirioti M., Linn C.E., White K. Characterization of *Drosophila* tyramine β -hydroxylase gene and isolation of mutant flies lacking octopamine // J. Neurosci. 1996. V. 16. P. 3900–3911.
- Postlethwait J.H., Parker J. Regulation of vitellogenesis in *Drosophila* // Molecular biology of invertebrate development / Ed. O'Connor J.D. N.Y.: Alan R. Liss Inc., 1987. P. 29–42.
- Rachinsky A. Octopamine and serotonin influence on corpora allata activity in honey bee (*Apis mellifera*) larvae // J. Insect Physiol. 1994. V. 40. P. 549–554.
- Rauschenbach I.Yu., Lukashina N.S., Korochkin L.I. Genetic of esterases in *Drosophila*. VIII. The gene controlling the activity of JH-esterase in *D. virilis* // Biochem. Genet. 1984. V. 22. P. 65–80.
- Rauschenbach I.Y., Lukashina N.S., Maksimovsky L.F. et al. Stress-like reaction of *Drosophila* to adverse environmental factors // J. Comp. Physiol. 1987. V. 157. P. 519–531.
- Rauschenbach I.Yu., Serova L.I., Timochina I.S. et al. Analysis of differences in dopamine content between two lines of *Drosophila virilis* in response to heat stress // J. Insect Physiol. 1993. V. 39. P. 761–767.
- Rauschenbach I.Y., Khlebodarova T.M., Chentsova N.A. et al. Metabolism of the juvenile hormone in *Drosophila adults* under normal conditions and heat stress // Ibid. 1995. V. 41. P. 179–189.
- Rauschenbach I.Y., Gruntenko N.E., Bownes M. et al. The role of juvenile hormone in the control of reproductive function in *Drosophila virilis* under nutritional stress // Ibid. 2004. V. 50. P. 323–330.
- Richard D.S., Watkins N.L., Serafin R.B., Gilbert L.I. Ecdysteroids regulate yolk protein uptake by *Drosophila melanogaster* oocytes // Ibid. 1998. V. 44. P. 637–644.
- Roeder T. Octopamine in invertebrates // Progr. Neurobiol. 1999. V. 59. P. 533–561.
- Soller M., Bownes M., Kubli E. Control of oocyte maturation in sexually mature *Drosophila* females // Devel. Biol. 1999. V. 208. P. 337–351.
- Thompson C.S., Yagi K.J., Chen Z.F., Tobe S.S. The effects of octopamine on juvenile hormone biosynthesis, electrophysiology, and cAMP content of the corpora allata of the cockroach *Diploptera punctata* // J. Comp. Physiol. B. 1990. V. 160. P. 241–249.
- Woodring J., Hoffmann K.H. The effects of octopamine, dopamine and serotonin on juvenile hormone synthesis, *in vitro*, in the cricket, *Gryllus bimaculatus* // J. Insect Physiol. 1994. V. 40. P. 797–802.

Biogenic Amines Regulate the Reproductive Function in *Drosophila* as Neurohormones

I. Yu. Rauschenbach, E. K. Karpova, N. E. Gruntenko,
Z. V. Saprykina, L. V. Shumnaya, and N. V. Faddeeva

*Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,
pr. Akademika Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia*

E-mail: iraushen@bionet.nsc.ru

Abstract—We studied the influence of experimental increase in the octopamine and dopamine content on the level of juvenile hormone degradation, oogenesis, and fertility in wild type *D. virilis* flies. Feeding of flies on octopamine led to a significantly decreased level of juvenile hormone degradation (increased titer) in young and sexually mature females, rather than in males, markedly decreased the number of vitellogenic (stages 8–10) and mature (stage 14) oocytes, and sharply reduced fertility. Feeding of flies on dopamine decreased the juvenile hormone degradation (increased titer) in young wild type females and increased it (lowered the juvenile hormone titer) in sexually mature females, as well as decreased the fertility of wild type females to a level characteristic for *D. virilis* line with a mutation doubling the endogenous dopamine level. A possible mechanism of the influence of these amines on the reproductive function in *Drosophila* as neurohormones is discussed and a conclusion is drawn that the reduced fertility of females at an increased level of amines appears to be related to an increased level of ecdysteroids, which is caused by an increased, as a result of decreased degradation, juvenile hormone titer.

Key words: reproductive function, juvenile hormone, octopamine, dopamine, *Drosophila*.