

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Редкие генотипы *Wolbachia* в лабораторных линиях *Drosophila melanogaster*

А.С. Рябинин, О.Д. Шишкина, Ю.Ю. Илинский, Р.А. Быков 

Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 bykovra@bionet.nsc.ru

Аннотация. Симбиотические бактерии рода *Wolbachia* широко распространены в популяциях *Drosophila melanogaster*. На основе полиморфизма перестроек генома разнообразие *Wolbachia* у *D. melanogaster* подразделяется на две клады: MEL (генотипы *wMel*, *wMel2*, *wMel3* и *wMel4*) и CS (*wMelCS* и *wMelCS2*). Генотип *wMel* доминирует в природных популяциях *D. melanogaster* и распространен по всему миру. Генотипы CS-клады представляют особый интерес, поскольку неизвестно, как они поддерживаются в популяциях *D. melanogaster*. При низкой частоте встречаемости они должны элиминироваться вследствие генетического дрейфа или вытесняться генотипом *wMel*, чего в действительности не происходит. Следовательно, эти генотипы поддерживаются отбором. Например, штамм *wMelPlus* (генотип *wMelCS*) способен увеличивать продолжительность жизни мух при повышенных температурах. Генотип *wMelCS* также увеличивает интенсивность дофаминового метаболизма у дрозофил по сравнению с генотипами MEL-клады. В настоящей работе проведен поиск редких генотипов *Wolbachia wMelCS* и *wMelCS2*, а также новых генотипов в линиях *D. melanogaster* дикого типа и в отдельных мутантных линиях лабораторного фонда. Симбионт был выявлен во всех популяционных выборках у 200 из 385 линий дикого типа и у 83 из 170 мутантных. Разнообразие *Wolbachia* в линиях *D. melanogaster* дикого типа представлено генотипами *wMel*, *wMelCS* и *wMelCS2*. Более 90 % инфицированных линий несут *Wolbachia wMel* генотипа, 9 % – *wMelCS2*, и только в двух линиях обнаружен *wMelCS*. Новых генотипов *Wolbachia* не зафиксировано. Для генотипа *wMelCS2* отмечена наиболее северная точка распространения – Ижевск (Удмуртия). Впервые показано присутствие генотипа *wMelCS2* в линии *D. melanogaster* из популяции о. Сахалин, а в линии из популяции г. Нальчик – генотипа *wMelCS*. Сравнение генетического разнообразия *Wolbachia* между лабораторными линиями дикого типа и ранее полученными данными для мутантных лабораторных линий показало различие в частотах редких генотипов CS-группы, у мутантных линий их больше, что может быть связано с историей поддержания линий *Drosophila*.

Ключевые слова: *Drosophila melanogaster*; *Wolbachia*; генотипы; лабораторный фонд.

Для цитирования: Рябинин А.С., Шишкина О.Д., Илинский Ю.Ю., Быков Р.А. Редкие генотипы *Wolbachia* в лабораторных линиях *Drosophila melanogaster*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2022;26(6):553-559. DOI 10.18699/VJGB-22-67

Rare *Wolbachia* genotypes in laboratory *Drosophila melanogaster* strains

A.S. Ryabinin, O.D. Shishkina, Yu.Yu. Ilinsky, R.A. Bykov 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 bykovra@bionet.nsc.ru

Abstract. Symbiotic bacteria of the genus *Wolbachia* are widespread in *Drosophila melanogaster* populations. Based on the polymorphism of the *Wolbachia* genome, the symbionts' diversity in *D. melanogaster* is presented by two groups: MEL (*wMel*, *wMel2*, *wMel3* and *wMel4*) and CS (*wMelCS* and *wMelCS2*). The *wMel* genotype is predominant in natural *D. melanogaster* populations and is distributed all over the world. The CS genotypes, on the other hand, are of particular interest because it is unclear how they are maintained in the fruit fly populations since they should have been eliminated from them due to their low frequency and genetic drift or been replaced by the *wMel* genotype. However, this is not what is really observed, which means these genotypes are supported by selection. It is known that the *wMelPlus* strain of the *wMelCS* genotype can increase the lifespan of infected flies at high temperatures. The same genotype also increases the intensity of dopamine metabolism in *Drosophila* compared to the MEL-group genotypes. In the present study, we searched for the rare *Wolbachia wMelCS* and *wMelCS2* genotypes, as well as for new genotypes in wild-type *D. melanogaster* strains and in several mutant laboratory strains. The symbiont was found in all populations, in 200 out of 385 wild-type strains and in 83 out of 170 mutant strains. *Wolbachia* diversity in *D. melanogaster* wild-type strains was represented by the *wMel*, *wMelCS* and *wMelCS2* genotypes. More than 90 % of the infected strains carried *wMel*; 9 %, *wMelCS2*; and only two strains were found to carry *wMelCS*. No new *Wolbachia* genotypes were found. The northernmost point reported for the *wMelCS2* genotype was Izhevsk city (Udmurtia, Russia). For the first time the *wMelCS2* genotype was detected in *D. melanogaster* from the Sakhalin Island, and

wMelCS, in the flies from Nalchik (the North Caucasus). A comparison of *Wolbachia* genetic diversity between the wild-type laboratory strains and previously obtained data on mutant laboratory strains demonstrated differences in the frequencies of rare CS genotypes, which were more prevalent in mutant strains, apparently due to the breeding history of these *Drosophila* strains.

Key words: *Drosophila melanogaster*; *Wolbachia*; genotypes; laboratory stock.

For citation: Ryabinin A.S., Shishkina O.D., Ilinsky Yu.Yu., Bykov R.A. Rare *Wolbachia* genotypes in laboratory *Drosophila melanogaster* strains. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2022;26(6): 553-559. DOI 10.18699/VJGB-22-67

Введение

Симбиотические бактерии рода *Wolbachia* широко распространены в популяциях *Drosophila melanogaster* (Riegler et al., 2005; Richardson et al., 2012; Ilinsky, 2013; Bykov et al., 2019). Геномы *Wolbachia* у линий *D. melanogaster*, кроме небольшого количества точечных мутаций, различаются по ряду перестроек, которые легко могут быть идентифицированы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с последующим электрофоретическим анализом по протоколу M. Reigler с коллегами (2005). На основе этого полиморфизма выделяют две группы генотипов: MEL, включающую генотипы wMel, wMel2, wMel3 и wMel4, и CS – генотипы wMelCS и wMelCS2 (Riegler et al., 2005; Ilinsky, 2013). Одноименный со штаммом генотип wMel преобладает в популяциях *D. melanogaster*, остальные генотипы встречаются редко и/или локально (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Ilinsky, 2013; Bykov et al., 2019).

Генотип wMelCS широко распространен, однако частоты его встречаемости в популяциях *D. melanogaster* обычно не превышают 10 % (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Serga et al., 2014; Bykov et al., 2019). В популяциях *D. melanogaster* Восточной Европы, Центральной и Северной Азии и Западной Сибири обнаруживается генотип wMelCS2, частоты в отдельных выборках достигали 40 % (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Ilinsky, 2013; Bykov et al., 2019). В популяциях Южной и Юго-Восточной Азии описаны единичные случаи инфицированности мух *Wolbachia* генотипа wMel2 (Riegler et al., 2005; Bykov et al., 2019). Генотип wMel4 впервые выявлен на территории п-ва Синай, и данных по его распространенности в популяциях нет (Ilinsky, 2013), а wMel3 обнаружен только у одной лабораторной линии и, вероятно, в природе не встречается (Riegler et al., 2005).

Детальный геномный анализ *Wolbachia* у *D. melanogaster* подтвердил справедливость выделения групп MEL и CS, а также позволил разбить их на несколько клад (Richardson et al., 2012; Chrostek et al., 2013; Early, Clark, 2013; Ilinsky, 2013). Для наиболее распространенного генотипа wMel было описано четыре клады, I, II, III и V, для wMel2 – две, IV и VIII. Для CS-группы генотипов выделяют одну кладу (Richardson et al., 2012; Chrostek et al., 2013; Ilinsky, 2013). Анализ нуклеотидного полиморфизма полных геномов *Wolbachia* wMelCS и wMelCS2 позволил выявить четыре гаплотипа (Bykov et al., 2019). Один гаплотип распространен у линий *D. melanogaster* из природных популяций и у мутантных линий фонда, а остальные варианты были обнаружены только у небольшого числа мутантных линий, что свидетельствует о низком генетическом разнообразии генотипов CS-группы.

Для некоторых генотипов *Wolbachia* описано влияние на биологию *D. melanogaster*. Так, генотипы wMel клады V, преобладающий в популяциях *D. melanogaster* Палеарктики (Bykov et al., 2019), и wMelCS клады VI способны индуцировать слабую цитоплазматическую несовместимость (Илинский, Захаров, 2009; Ilinsky, 2013). Сравнение времени содержания мух при разных температурных режимах (Versace et al., 2014; Mazzucco et al., 2020) показало, что в «холодных» условиях лучше выживают *D. melanogaster*, несущие *Wolbachia* клады V (wMel-генотип), по сравнению с кладами VI (wMelCS) и I, II, III (wMel). Определено различие температурных предпочтений мух, в зависимости от статуса инфицированности и генотипа *Wolbachia* (Arnold et al., 2019; Truitt et al., 2019). Показано, что wMelCS увеличивает интенсивность дофаминового метаболизма, в отличие от wMel, wMel2 и wMel4 (Gruntenko et al., 2017). Самки *D. melanogaster*, инфицированные *Wolbachia* генотипа wMel, более плодовиты, по сравнению с неинфицированными, а также с инфицированными бактерией генотипа wMelCS (Serga et al., 2014). Эти авторы также отмечают, что wMelCS может снижать плодовитость.

Данных по распространенности и разнообразию *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* достаточно много (Hoffmann et al., 1994, 1998; Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Verspoor, Haddrill, 2011; Bykov et al., 2019), в то время как исследования лабораторных фондов включают всего две работы (Clark et al., 2005; Илинский и др., 2014). Исследование мух фонда Bloomington *Drosophila* Stock Center проводилось только на уровне оценки инфицированности линий с разными группами мутаций, а также линий, содержащих P-элемент, и линий дикого типа (Clark et al., 2005). Показаны различия по числу инфицированных линий в разных группах мух, что, вероятно, связано с историей их создания и поддержания.

Исследование мутантных линий *D. melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН было направлено не только на анализ частот инфицированности, но и на определение генетического разнообразия *Wolbachia* в линиях фонда, несущих различные мутации (Илинский и др., 2014). В результате были выявлены отличия как по частотам инфицированности, так и по составу генотипов между группами линий с разными мутациями. При этом в отдельных случаях явно прослеживалась связь с историей ведения культуры, в частности использование конкретных инфицированных балансерных линий для поддержания отдельных мутаций.

В отношении генетического разнообразия *Wolbachia* генотипы CS-группы представляют особый интерес, по-

сколько неизвестно, как они поддерживаются в популяциях *D. melanogaster*. С учетом низкой частоты встречаемости они должны элиминироваться из популяций вследствие генетического дрейфа или вытесняться генотипом *wMel*, однако в действительности этого не происходит (Riegler et al., 2005; Ilinsky, 2013; Bykov et al., 2019). Вероятно, эти варианты *Wolbachia* поддерживаются отбором. Сейчас появляются данные по некоторым фенотипическим эффектам представителей этой группы генотипов. Например, штамм *wMelPlus* (генотип *wMelCS*) увеличивает выживаемость мух при тепловом стрессе, но механизмы этого явления неизвестны (Burdina et al., 2021). Еще один штамм бактерии, *wMelPop* (генотип *wMelCS*), был выделен на основе эффекта гибели мух вследствие безудержной пролиферации бактерий в клетках хозяина (Min, Benzer, 1997; Woolfit et al., 2013).

Сравнительное исследование изолятов *Wolbachia* на основе их генетической дифференциации, возможно, позволит обнаружить новые явления и понять механизмы взаимодействия симбионта и хозяина, что в перспективе может быть использовано в прикладных целях. Так, например, для генотипов *wMel* и *wMelCS* установлена способность блокировать передающиеся комарами вирусные заболевания, такие как лихорадка Денге, вирус Зика и др., при переносе их от дрозифилы комарам (Schultz et al., 2017; Xue et al., 2018; Flores et al., 2020).

Цель настоящей работы – поиск в линиях *D. melanogaster*, содержащихся в лабораторном фонде Института цитологии и генетики СО РАН, редких генотипов *Wolbachia*, таких как *wMelCS* и *wMelCS2*, а также новых генотипов. Эти линии в дальнейшем могут быть использованы для изучения воздействия *Wolbachia* на биологию *D. melanogaster*, в частности для анализа ее влияния на метаболизм инфицированных линий мух, их плодовитость и устойчивость к тепловому стрессу. Результаты проведенного исследования дополняют данные предыдущих работ о распространенности и разнообразии *Wolbachia* в природных популяциях и лабораторных фондах *D. melanogaster*.

Материалы и методы

В работе было использовано 555 линий *D. melanogaster* из фонда отдела генетики насекомых ИЦиГ СО РАН. Линии были созданы на основе сборов из природных популяций разных регионов России, Украины и Киргизии за период с 1985 по 2016 г., а также из Кении – 2019 г. (табл. 1, 2). Для выделения ДНК задействовали пулы из пяти самок. Мух гомогенизировали в буфере STE (0.1 M NaCl, 10 mM Трис-НСl (pH 8.0), 1 M ЭДТА (pH 8.0)) и инкубировали в течение часа при 56 °С. После инкубации образцы центрифугировали 10 мин при 13000 об/мин для осаждения дебриса, после чего супернатант использовали для постановки ПЦР. Образцы были проанализированы на: 1) присутствие *Wolbachia* (вся коллекция); 2) частоту инфицированности и присутствие редких генотипов *Wolbachia* (370 линий дикого типа (см. табл. 1)), а для популяций, представленных более чем 10 линиями, определяли частоту инфицированности *Wolbachia* и рассчитывали 95 % доверительные интервалы методом Клоппера–Пирсона; 3) разнообразие CS-генотипов (170 линий, содержащих выделенные из природы мутации (см. табл. 2)); 4) возмож-

ную потерю инфекции (15 линий *D. melanogaster* дикого типа из популяции г. Томска (см. табл. 1), ранее охарактеризованных на статус инфицированности и генотип *Wolbachia* (Bykov et al., 2019)).

Определение статуса инфицированности и генотипов *Wolbachia* осуществляли по методике M. Riegler с коллегами (2005) с использованием четырех маркеров: встройка в локусы WD_1310 и WD_0516, количество повторов минисателлитных мотивов *vntr* 105 и *vntr* 141. Для 170 мутантных линий *D. melanogaster* анализ присутствия *Wolbachia* был проведен только по локусам 1310 и 0516/7, позволяющим отнести бактерию к MEL- или CS-группе генотипов. Для выявленных вариантов CS-группы выполнили дополнительный анализ по локусам *vntr* 105 и *vntr* 141, дающим возможность разделить *wMelCS*- и *wMelCS2*-генотипы. Эти 170 линий не учитывали при анализе частот инфицированности и частот генотипов *Wolbachia*, поскольку они не дают представления о встречаемости симбионта в популяции. Статистический анализ выполняли с помощью Minitab 17.1.0 (Minitab Inc., Стейт-Колледж, Пенсильвания, США).

Результаты

Из 555 линий *D. melanogaster*, использованных в анализе, *Wolbachia* выявлена у 51.9 % линий дикого типа (см. табл. 1) и 48.8 % мутантных (см. табл. 2). Для коллекции линий дикого типа уровень инфицированности варьировал от 15.8 до 100 % (см. табл. 1) и в среднем составил 52 % (95 % ДИ 46.8–57.0 %). Симбионт обнаружен во всех популяционных выборках. Для 15 линий из популяции Томска был подтвержден статус инфицированности и ожидаемый генотип *Wolbachia*, т.е. потери бактерии за 10 лет содержания линий в лаборатории не зафиксировано.

Разнообразие *Wolbachia* в исследованных линиях *D. melanogaster* дикого типа представлено тремя генотипами: *wMel*, *wMelCS* и *wMelCS2*. Более 90 % инфицированных линий несут генотип *wMel*, что согласуется с его преобладанием в природных популяциях мира (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Bykov et al., 2019). На долю *wMelCS2* приходится около 9 % инфицированных линий, полученных из популяций Алтая (Горно-Алтайск, Бийск), Киргизии (Бишкек) и Удмуртии (Ижевск). Единственный случай бактерии генотипа *wMelCS* обнаружен нами в линии из популяции Украины. Редкие варианты *Wolbachia* CS-клады также были выявлены у мутантных мух из популяций о. Сахалина и г. Нальчика (см. табл. 2). При этом *wMelCS2* на территории Сахалина ранее не обнаруживался, а для популяций Нальчика сообщений о генотипе *wMelCS* прежде не было.

Обсуждение

Мы провели поиск бактерий *Wolbachia* генотипов *wMelCS* и *wMelCS2* в линиях *D. melanogaster*, собранных из природных популяций и поддерживающихся в лабораторном фонде в течение 3–36 лет. Эти генетические варианты симбионта редко встречаются в популяциях мух, но при этом могут быть географически широко распространены в мире (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Bykov et al., 2019). В большинстве случаев они выявлены в линиях мух из регионов, где их уже находили ранее.

Таблица 1. Частота встречаемости и генетический состав *Wolbachia* в линиях *D. melanogaster* дикого типа из фонда отдела генетики насекомых ИЦиГ СО РАН

Место сбора, год	N/N_{w+} (%w+; 95 % ДИ)*	Генотип (количество)**
Украина, Киев, 1985	1/1	wMelCS2
Крым, Магарач, 1990	7/4	wMel
Украина, Запорожье, 1990	9/1	wMel
Россия, Горно-Алтайск, 1992	8/5	wMel (1), wMelCS2 (4)
Россия, Бийск, 1993	49/20 (40.8 %; 27.0–55.8 %)	wMel (14), wMelCS2 (6)
Украина, Никополь, 1997	10/6 (60 %; 26–88 %)	wMel
Россия, Ижевск, 2000	10/5 (50 %; 19–81 %)	wMel
Россия, Карамбай, 2000	19/3 (15.8 %; 33.8–39.6 %)	wMel
Россия, Пычас, 2000	11/7 (63.6 %; 30.8–89.1 %)	wMel
Украина, Черкассы, 2000	30/12 (40 %; 22.7–59.4 %)	wMel
Киргизия, Бишкек, 2001	25/6 (24 %; 9–45 %)	wMel (4), wMelCS2 (2)
Россия, Пычас, 2001	28/19 (67.9 %; 47.6–84.1 %)	wMel
Украина, Черкассы, 2001	46/10 (22 %; 11–36 %)	wMel (9), wMelCS (1)
Россия, Адлер, 2002	2/1	wMel
Россия, Ижевск, 2002	22/15 (68.2 %; 45.1–86.1 %)	wMel (14), wMelCS2 (1)
Киргизия, Бишкек, 2006	3/3	wMel (2), wMelCS2 (1)
Россия, Краснодар, 2006	11/8 (73 %; 39–94 %)	wMel
Россия, Томск, 2006	3/2	wMel
Украина, Никополь, 2006	17/7 (41.2 %; 18.4–67.1 %)	wMel
Крым, Магарач, 2008	4/2	wMel
Украина, Киев, 2008	2/2	wMel
Украина, Полесское, 2008	14/10 (71.4 %; 42–92 %)	wMel
Украина, Чернобыль, 2008	10/7 (70 %; 35–93 %)	wMel
Россия, Томск, 2011***	15/15 (100 %; 78.2–100 %)	wMel
Кения, Найроби, 2019	1/1	wMel
Кения, Китале, 2019	10/10 (100 %; 69–100 %)	wMel
Кения, Кибоко, 2019	8/8	wMel
Кения, 2019	10/10 (100 %; 69–100 %)	wMel
Всего	385/200	wMel (184), wMelCS (1), wMelCS2 (15)

* N – количество проанализированных линий; N_{w+} – количество инфицированных линий; %w+ – доля инфицированных образцов; 95 % доверительные интервалы (ДИ) рассчитаны методом Клоппера–Пирсона для выборок $N \geq 10$; ** количество указано в случае обнаружения нескольких генотипов; *** линии были ранее охарактеризованы (Bykov et al., 2019).

Таблица 2. Распространенность *Wolbachia* в коллекции мутантных линий *D. melanogaster*, выделенных из природных популяций

Место сбора, год	N/N_{w+}	N_{MEL}	N_{CS} (генотип)
Россия, Сахалин, 2014–2016	128/53	52	1 (wMelCS2)
Россия, Нальчик, 2000	42/30	25	4 (wMelCS2), 1 (wMelCS)
Всего	170/83	77	5 (wMelCS2), 1 (wMelCS)

Примечание. N – количество проанализированных линий; N_{w+} – количество инфицированных линий; N_{MEL} , N_{CS} – количество линий, несущих *Wolbachia* MEL- и CS-клады соответственно.

Таблица 3. Сравнение данных по генотипическому составу *Wolbachia* в линиях *D. melanogaster* из фондов дикого типа, мутантных линий и природных популяций

Тип линий	$N_{wMel}/\%wMel$	95 % ДИ	Редкие генотипы ($wMelCS$, $wMelCS2$, $wMel2$, $wMel4$)	Редкие, %	95 % ДИ
Дикий тип	184/92	87–95	16	8	5–13
Мутантные (Илинский и др., 2014)	60/43	35–52	78	57	48–65
Природные (Вуков et al., 2019)	852/98	96–99	17	2	1–3

Примечание. N_{wMel} – количество линий с *Wolbachia* генотипа $wMel$; $\%wMel$ – процент линий с *Wolbachia* генотипа $wMel$.

Таблица 4. Сравнение данных по распространенности *Wolbachia* в линиях *D. melanogaster* из фондов дикого типа, мутантных линий и природных популяций

Тип линий	N	N_{w+}	N_{w-}	Частота, %	95 % ДИ
Дикий тип	385	200	185	52	47–57
Мутантные (Илинский и др., 2014)	353	138	215	39	34–44
Природные (Вуков et al., 2019)	1505	869	636	57	55–60

Примечание. N – количество линий; N_{w+} , N_{w-} – количество инфицированных и неинфицированных линий соответственно.

На территории Удмуртии (Ижевск) *Wolbachia* генотипа $wMelCS2$ у *D. melanogaster* ранее не обнаружено, что, вероятно, связано с малым количеством проверенных линий (Илинский, Захаров, 2007а). На сегодняшний день это самая северная точка в мире, где мы смогли найти данный генотип (Вуков et al., 2019), хотя сведений о генетическом разнообразии *Wolbachia* в северных популяциях *D. melanogaster* крайне мало. Вероятно, границы распространенности *Wolbachia wMelCS2* значительно шире, чем известно сейчас. Вероятен также и случайный завоз *D. melanogaster* с этим вариантом бактерии в данный регион вместе с продуктами. При этом в дальнейшем он может не закрепиться в популяциях мух, например вследствие гибели локальной популяции в зимний период. Похожий случай завоза, возможно, произошел с мутантной линией *D. melanogaster* с о. Сахалин, у которой выявлена *Wolbachia wMelCS*-генотипа, ранее не наблюдавшегося на этой территории.

Ранее мы подробно охарактеризовали инфицированность и генетическое разнообразие *Wolbachia* в популяциях *D. melanogaster* г. Нальчик 2010–2013 гг., в которых обнаружили единичные случаи генотипа $wMelCS2$ (Быков и др., 2014; Вуков et al., 2019). Проведенный нами анализ мутантных линий *D. melanogaster*, выделенных из популяции г. Нальчик 2000 г., показал присутствие как генотипа $wMelCS2$, так и $wMelCS$. На основании полученных данных можно сделать вывод о стабильном поддержании *Wolbachia wMelCS2* в популяциях дрозофил этого региона. Выявленный случай $wMelCS$ -генотипа подтверждает более раннее предположение о возможном присутствии этого варианта бактерии в популяциях г. Нальчика (Быков и др., 2014). Поддержание редких генотипов *Wolbachia* в популяциях *D. melanogaster* на протяжении многих лет может быть обусловлено несколькими причинами. Особи *D. melanogaster*, несущие бактерии генотипов $wMelCS$ и $wMelCS2$, могут переживать и давать новые поколения инфицированных мух (Kriesner et al., 2016; Вуков et al., 2019). Сам симбионт может давать преимущества

инфицированным особям (Hedges et al., 2008; Teixeira et al., 2008; Gruntenko et al., 2017) или индуцировать репродуктивные аномалии, направленные на поддержание инфекции в популяции (Илинский, Захаров, 2009; Ilinsky, 2013).

У мутантных лабораторных линий *D. melanogaster* генотипы *Wolbachia wMelCS* и $wMelCS2$ встречаются значительно чаще, что объясняется историей создания линий, а именно использованием балансерных линий с бактериями этих генотипов (Илинский и др., 2014). Сравнение данных по генетическому разнообразию *Wolbachia* у *D. melanogaster* из природных популяций, фонда мутантных линий и фонда линий дикого типа показывает наличие достоверных различий по соотношению генотипов между линиями дикого типа из фонда и природными популяциями (точный тест Фишера, $p = 7 \times 10^{-5}$). Коллекция мутантных линий значительно отличается по генетическому составу *Wolbachia* от линий дикого типа и от природных линий, точный тест Фишера, $p < 1 \times 10^{-8}$ в обоих случаях (табл. 3).

В целом результаты по распространенности *Wolbachia* в лабораторных культурах *D. melanogaster*, полученные в ходе данной работы, согласуются с ранее опубликованными данными для природных популяций, свидетельствующими, что симбионт присутствует повсеместно с преимущественно высокими частотами (Илинский, Захаров, 2007а; Verspoor, Haddrill, 2011; Serga et al., 2014; Вуков et al., 2019). При детальном сравнении наших данных для линий дикого типа с мутантными линиями и природными популяциями выявлены различия в частотах встречаемости *Wolbachia*. Как мутантные линии, так и линии дикого типа отличаются от природных популяций (точный тест Фишера, $p = 0.043$ для дикого типа и $p < 1 \times 10^{-8}$ – для мутантных линий) и различаются между собой ($p = 0.0005$) (табл. 4).

Возможным объяснением разницы в частотах встречаемости симбионта между природными популяциями и линиями дикого типа из фонда может быть потеря ин-

фекции в ряде линий в течение многих поколений. Известно, что *Wolbachia* способна со временем утрачиваться в материнской родословной за счет неполной материнской передачи, а в отсутствие какого-либо положительного влияния на хозяина может вовсе элиминироваться из популяции (Hoffmann et al., 1998; Илинский и др., 2014). По результатам нашего анализа, мы не зафиксировали утраты *Wolbachia* в 15 линиях *D. melanogaster* из популяции Томска, содержащихся в фонде на протяжении 10 лет. Однако для мутантных линий *D. melanogaster* ранее были выявлены случаи возможной утраты симбионта (Илинский и др., 2014). Для использованной в работе (Ilinsky, 2013) линии S400, несущей *Wolbachia* генотипа wMel клады III, также отмечена утрата *Wolbachia* (данные не приведены).

Заключение

Выявлены две линии *D. melanogaster*, несущие *Wolbachia* генотипа wMelCS, и 20 линий с бактерией wMelCS2-генотипа. Эти линии будут использованы в дальнейших исследованиях влияния симбионта на биологию *D. melanogaster*. Наши данные расширяют представления о границах распространенности редкого генотипа wMelCS2, для которого определена наиболее северная точка. Результаты проведенного исследования показывают возможность стабильного поддержания *Wolbachia* в лабораторных линиях, однако не исключают возможности утраты симбионта при более длительном содержании. Частоты встречаемости симбионта и его генотипический состав в целом согласуются с полученными ранее данными для природных популяций и дополняют их. В сравнении с фондом мутантных линий *D. melanogaster* частоты встречаемости и генотипический состав *Wolbachia* у фонда линий дикого типа более приближены к наблюдающимся в природных популяциях.

Список литературы / References

- Быков Р.А., Илинский Ю.Ю., Волошина М.А., Захаров И.К. Распространенность и генотипическое разнообразие симбиотической бактерии *Wolbachia* в популяции *Drosophila melanogaster* г. Нальчик. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014; 18(2):315-319.
[Bykov R.A., Ilinskii Yu.Yu., Voloshina M.A., Zakharov I.K. Prevalence and genotypic diversity of the symbiotic bacterium *Wolbachia* in the *Drosophila melanogaster* population of Nalchik. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2014;4:539-542. <https://doi.org/10.1134/S2079059714060057>.]
- Илинский Ю.Ю., Быков Р.А., Захаров И.К. Цитотипы мутантных линий *Drosophila melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций Института цитологии и генетики СО РАН: генотипы эндосимбионта *Wolbachia* и митотипы вида-хозяина. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2014;17(3):404-423.
[Ilinsky Y.Y., Bykov R.A., Zakharov I.K. Cytotypes of mutant *Drosophila melanogaster* stocks from the collection of the genetics of population laboratory of the Institute of Cytology and Genetics SB RAS: genotypes of the *Wolbachia* endosymbiont and host mitotypes. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2014;17(3):404-423. (in Russian)]
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *Drosophila melanogaster*. *Генетика*. 2007a; 43(7):905-915.
[Ilinsky Yu.Yu., Zakharov I.K. The endosymbiont *Wolbachia* in Eurasian populations of *Drosophila melanogaster*. *Russ. J. Genet.* 2007a;43(7):748-756. DOI 10.1134/S102279540707006X.]
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Характеристика инфицированности цитоплазматическим эндосимбионтом *Wolbachia* популяции *Drosophila melanogaster* Умани. *Докл. акад. наук*. 2007b; 413(4):561-563.
[Ilinsky Yu.Yu., Zakharov I.K. Infection of the Uman' population of *Drosophila melanogaster* with the cytoplasmic endosymbiont *Wolbachia*. *Dokl. Biol. Sci.* 2007b;413(1):166-168. DOI 10.1134/S0012496607020238.]
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Цитоплазматическая несовместимость у *Drosophila melanogaster*, обусловленная различными генотипами *Wolbachia*. *Экол. генетика*. 2009;7(2):1-18.
[Ilinsky Yu.Yu., Zakharov I.K. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* is caused by different *Wolbachia* genotypes. *Russ. J. Genet. Appl. Res.* 2011;1(5):458-462. DOI 10.1134/S2079059711020031.]
- Arnold P.A., Levin S.C., Stevanovic A.L., Johnson K.N. *Drosophila melanogaster* infected with *Wolbachia* strain wMelCS prefer cooler temperatures. *Ecol. Entomol.* 2019;44(2):287-290. DOI 10.1111/een.12696.
- Burdina E.V., Bykov R.A., Menshanov P.N., Ilinsky Y.Y., Gruntenko N.E. Unique *Wolbachia* strain wMelPlus increases heat stress resistance in *Drosophila melanogaster*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2021;106(4):e21776. DOI 10.1002/arch.21776.
- Bykov R.A., Yudina M.A., Gruntenko N.E., Zakharov I.K., Voloshina M.A., Melashchenko E.S., Danilova M.V., Mazunin I.O., Ilinsky Y.Y. Prevalence and genetic diversity of *Wolbachia* endosymbiont and mtDNA in Palearctic populations of *Drosophila melanogaster*. *BMC Evol. Biol.* 2019;19(1):45-53. DOI 10.1186/s12862-019-1372-9.
- Chrostek E., Marialva M.S., Esteves S.S., Weinert L.A., Martinez J., Jiggins F.M., Teixeira L. *Wolbachia* variants induce differential protection to viruses in *Drosophila melanogaster*: a phenotypic and phylogenomic analysis. *PLoS Genet.* 2013;9(12):e1003896. DOI 10.1371/journal.pgen.1003896.
- Clark M.E., Anderson C.L., Cande J., Karr T.L. Widespread prevalence of *Wolbachia* in laboratory stocks and the implications for *Drosophila* research. *Genetics*. 2005;170(4):1667-1675. DOI 10.1534/genetics.104.038901.
- Early A.M., Clark A.G. Monophyly of *Wolbachia* pipientis genomes within *Drosophila melanogaster*: geographic structuring, titre variation and host effects across five populations. *Mol. Ecol.* 2013; 22(23):5765-5778. DOI 10.1111/mec.12530.
- Flores H.A., Taneja de Bruyne J., O'Donnell T.B., Tuyet Nhu V., Thi Giang N., Thi Xuan Trang H., ... Thi Hue Kien D., Thuy Vi T., Willis B., O'Neill S.L., Simmons C.P., Carrington L.B. Multiple *Wolbachia* strains provide comparative levels of protection against dengue virus infection in *Aedes aegypti*. *PLoS Pathog.* 2020;16(4): e1008433. DOI 10.1371/journal.ppat.1008433.
- Gruntenko N.E., Ilinsky Y.Y., Adonyeva N.V., Burdina E.V., Bykov R.A., Menshanov P.N., Rauschenbach I.Y. Various *Wolbachia* genotypes differently influence host *Drosophila* dopamine metabolism and survival under heat stress conditions. *BMC Evol. Biol.* 2017;17(2):15-22. DOI 10.1186/s12862-017-1104-y.
- Hedges L.M., Brownlie J.C., O'Neill S.L., Johnson K.N. *Wolbachia* and virus protection in insects. *Science*. 2008;322(5902):702. DOI 10.1126/science.1162418.
- Hoffmann A.A., Clancy D.J., Merton E. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1994; 136(3):993-999. DOI 10.1093/genetics/136.3.993.
- Hoffmann A.A., Hercus M., Dagher H. Population dynamics of the *Wolbachia* infection causing cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 1998;148(1):221-231. DOI 10.1093/genetics/148.1.221.
- Ilinsky Y. Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes. *PLoS One*. 2013;8(1):e54373. DOI 10.1371/journal.pone.0054373.
- Kriesner P., Conner W.R., Weeks A.R., Turelli M., Hoffmann A.A. Persistence of a *Wolbachia* infection frequency cline in *Drosophila*

- melanogaster* and the possible role of reproductive dormancy. *Evolution*. 2016;70(5):979-997. DOI 10.1111/evo.12923.
- Mazzucco R., Nolte V., Vijayan T., Schlötterer C. Long-term dynamics among *Wolbachia* strains during thermal adaptation of their *Drosophila melanogaster* hosts. *Front. Genet.* 2020;11:482. DOI 10.3389/fgene.2020.00482.
- Min K.T., Benzer S. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997;94(20):10792-10796. DOI 10.1073/pnas.94.20.10792
- Richardson M.F., Weinert L.A., Welch J.J., Linheiro R.S., Magwire M.M., Jiggins F.M., Bergman C.M. Population genomics of the *Wolbachia* endosymbiont in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet.* 2012;8(12):e1003129. DOI 10.1371/journal.pgen.1003129.
- Riegler M., Sidhu M., Miller W.J., O'Neill S.L. Evidence for a global *Wolbachia* replacement in *Drosophila melanogaster*. *Curr. Biol.* 2005;15(15):1428-1433. DOI 10.1016/j.cub.2005.06.069.
- Schultz M.J., Isern S., Michael S.F., Corley R.B., Connor J.H., Frydman H.M. Variable inhibition of Zika virus replication by different *Wolbachia* strains in mosquito cell cultures. *J. Virol.* 2017;91(14):e00339-17. DOI 10.1128/JVI.00339-17.
- Serga S., Maistrenko O., Rozhok A., Mousseau T., Kozeretska I. Fecundity as one of possible factors contributing to the dominance of the wMel genotype of *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Symbiosis*. 2014;63(1):11-17. DOI 10.1007/s13199-014-0283-1.
- Teixeira L., Ferreira Á., Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* 2008;6(12):e1000002. DOI 10.1371/journal.pbio.1000002.
- Truitt A.M., Kapun M., Kaur R., Miller W.J. *Wolbachia* modifies thermal preference in *Drosophila melanogaster*. *Environ. Microbiol.* 2019;21(9):3259-3268. DOI 10.1111/1462-2920.14347.
- Versace E., Nolte V., Pandey R.V., Tobler R., Schlötterer C. Experimental evolution reveals habitat-specific fitness dynamics among *Wolbachia* clades in *Drosophila melanogaster*. *Mol. Ecol.* 2014;23(4):802-814. DOI 10.1111/mec.12643.
- Verspoor R.L., Haddrill P.R. Genetic diversity, population structure and *Wolbachia* infection status in a worldwide sample of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans* populations. *PLoS One*. 2011;6(10):e26318. DOI 10.1371/journal.pone.0026318.
- Woolfit M., Iturbe-Ormaetxe I., Brownlie J.C., Walker T., Riegler M., Seleznev A., Popovici J., Rances E., Wee B.A., Pavlides J., Sulivan M.J., Beatson S.A., Lane A., Sidhu M., McMeniman C.J., McGraw E.A., O'Neill S.L. Genomic evolution of the pathogenic *Wolbachia* strain, wMelPop. *Genome Biol. Evol.* 2013;5(11):2189-2204. DOI 10.1093/gbe/evt169.
- Xue L., Fang X., Hyman J.M. Comparing the effectiveness of different strains of *Wolbachia* for controlling chikungunya, dengue fever, and Zika. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 2018;12(7):e0006666. DOI 10.1371/journal.pntd.0006666.

ORCID ID

A.S. Ryabinin orcid.org/0000-0002-3464-3325
O.D. Shishkina orcid.org/0000-0001-9370-4485
Yu.Yu. Ilinsky orcid.org/0000-0002-2691-3241
R.A. Bykov orcid.org/0000-0001-7405-1773

Благодарности. Исследование выполнено в рамках государственного задания (проект № FWNR-2022-0019).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 31.05.2022. После доработки 28.06.2022. Принята к публикации 28.06.2022.