

УДК 575.17.+591.557:595.773.4

ЗАГАДКА РАСПРОСТРАНЕНИЯ *WOLBACHIA* В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

© 2013 г. С. В. Серга, И. А. Козерецкая

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко
кафедра общей и молекулярной генетики
01601 Украина, Киев, ул. Владимирская, 64
e-mail: luchiksveta05@gmail.com

Поступила в редакцию 23.06.2012 г.

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* повсеместно распространена в природных популяциях беспозвоночных по всему миру. Считается, что такое широкое распространение обеспечивается либо так называемым репродуктивным паразитизмом (модификациями полового размножения), либо мутуалистическими взаимоотношениями с организмом-хозяином, поскольку бактерия передается трансовариально. У *Drosophila melanogaster* *Wolbachia* не вызывает ни одной из известных модификаций полового размножения в достаточной мере, чтобы повлиять на частоту бактерии в популяции, при этом являясь чрезвычайно широко распространенной в природных популяциях и лабораторных линиях этого вида насекомых. Показано, что её влияние на репродукционные процессы заключается только в низком уровне цитоплазматической несовместимости в лабораторных линиях, в природе не удалось показать даже такого эффекта. Попытки объяснить широкое распространение *Wolbachia* среди представителей *D. melanogaster* увеличением приспособленности инфицированных особей также не увенчались успехом. Данные, полученные в этом направлении, являются противоречивыми, а результаты – не универсальными. В то же время имеются неполные данные о влиянии бактерии на половое поведение дрозофилы, на экспрессию некоторых генов, метаболизм железа. Показано, что бактерия повышает резистентность особей к РНК-вирусам, часто инфицирующим мух в природе, хотя механизмы данного явления остаются невыясненными, так же как и универсальность самого феномена. Таким образом, с одной стороны, можно утверждать, что инфицирование *Wolbachia* имеет комплексное влияние на *D. melanogaster*; но с другой – причины широкого распространения *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* остаются не выясненными.

Развитие молекулярной генетики вывело в число важнейших эволюционных проблем взаимоотношения симбиотических прокариотов и эукариотических организмов, которые являются их хозяевами. Эволюционно-генетические аспекты таких отношений оказались так важны, что плодом их анализа стала новая радикальная эволюционная концепция – хологеномная теория эволюции (Zilber-Rosenberg, Rosenberg, 2008), согласно которой единицей отбора является холобионт – организм-хозяин и вся его микробиота и, как следствие, его хологеном, находящиеся в тесном взаимодействии. Как следствие, симбиотическим организмам, чрезвычайно распространенным в природе, отводится огромная роль в процессах адаптации их хозяев.

Особое место среди симбионтов беспозвоночных занимают так называемые репродуктивные паразиты – микроорганизмы, способные влиять

на половое размножение организмов-хозяев. Такие микроорганизмы передаются исключительно или преимущественно трансовариально, т.е. от матери к потомству. В большинстве случаев репродуктивные паразиты выработали особые механизмы модификации полового размножения вида-хозяина: цитоплазматическую несовместимость (ЦН), феминизацию, переход к партеногенезу, андроцид (male-killing) – и все это для обеспечения своего выживания и распространения в природных популяциях (O'Neill et al., 1997). Манипулирование половым размножением организма-хозяина известно для бактерий таких родов, как *Wolbachia*, *Cardinium*, *Arsenophonus*, *Rickettsia*, а также *Flavobacterium* и *Spiroplasma* (Duron et al., 2008). Наиболее изученными из них являются бактерии рода *Wolbachia*, которые очень широко распространены в природных популяциях беспозвоночных. В зависимости от штамма *Wolbachia* и генетических особенностей организма-

хозяина известны все четыре упомянутые выше механизмы модификации полового размножения под влиянием бактерии (Werren, 1997; Горячева, 2004).

Wolbachia, которая вызывает ЦН у *Drosophila melanogaster*, была впервые описана в природных популяциях Австралии (Hoffmann, 1988). С тех пор показано, что бактерия является распространенной повсеместно в природных популяциях и лабораторных линиях данного вида, а уровень инфицированности колеблется от ничтожно малого до 100% (Илинский, Захаров, 2007). При этом типирование бактерий из различных популяций этого вида насекомых показало наличие только одного штамма *Wolbachia* – wMel (Riegler et al., 2005). Кроме того, в лабораторных линиях *D. melanogaster* обнаружен штамм бактерии wMelPop, который вызывает дегенерацию нервных тканей и раннюю гибель особей (Min, Benzer, 1997). Бактерия в пределах вида передается исключительно вертикально и не вызывает ни одной из типичных модификаций полового размножения, кроме низкого уровня ЦН (Hoffmann et al., 1998). В популяциях других видов беспозвоночных именно манипулирование половым размножением позволяет бактерии повысить количество инфицированных особей (Werren, 1997). В популяциях других видов дрозофил *D. bifasciata* и *D. innibula* обнаружено наличие *Wolbachia*, которая вызывает андроид (Unkless, Jaenike, 2011; Hurst et al., 2000), а в природных популяциях *D. simulans* ряд штаммов вызывает высокий уровень ЦН, что обеспечивает уровень инфицированности близкий к 100% в таких популяциях (Ballard, 2004). Поскольку подобных эффектов у *D. melanogaster* не обнаружено, остается открытым вопрос об особенностях взаимодействия *Wolbachia* и *D. melanogaster*, которые обеспечивают бактерии возможность такого широкого распространения в природных популяциях.

Ниже приведен анализ основных эффектов *Wolbachia*, которые могли бы в той или иной степени объяснить распространение бактерии среди представителей *D. melanogaster*.

ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКАЯ НЕСОВМЕСТИМОСТЬ У *D. MELANOGASTER*

Распространение *Wolbachia* в природных популяциях дрозофилид чрезвычайно широкое: она описана в популяциях дрозофилид Африки, Южной и Северной Америки, Австралии, Евразии и Японии (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров,

2007; Hoffmann et al., 1998). При этом частота инфицированности одинаково вариabельна в популяциях всех континентов и может значительно различаться в популяциях одного континента. Также не зафиксировано корреляции между данным показателем и широтой и долготой обитания природной популяции, кроме работы Хоффманна с соавт. (Hoffmann et al., 1998), где показана высокая частота встречаемости *Wolbachia* в популяциях севера Австралии (в среднем 60–100%) и низкая в южных регионах (до 20%). Но в исследованиях других локалитетов такой зависимости не показано (Riegler et al., 2005; Илинский, Захаров, 2007). Так, Ю.Ю. Илинский и И.К. Захаров (2007) отмечают, что в среднем уровень инфицированности *Wolbachia* выше в среднеазиатских (64%) и алтайских (56%) популяциях по сравнению с восточно-европейскими (Украина, Белоруссия, Молдова) – 39%. При этом не было обнаружено ни одной выборки природной популяции *D. melanogaster*, которая была бы свободной от бактерии. Так, из 177 изосамочьих линий, собранных в природе в разные годы, 80 (45%) являются инфицированными *Wolbachia*, а именно 40% линий из Африки, 44% линий из Южной и Северной Америк, 49% линий из Восточной Европы и Среднего Востока, 50% линий из Японии, 50% линий из Австралии и Полинезии, 43% линий из Западной и Центральной Европы (Riegler et al., 2005). Считается, что такое широкое распространение бактерия, которая передается от матери к потомству, может получить либо модифицируя половое размножение вида-хозяина, либо давая инфицированным особям какое-либо преимущество в сравнении с неинфицированными (O'Neill et al., 1997). Наиболее типичной модификацией полового размножения у дрозофилид под влиянием *Wolbachia* является ЦН (Werren, 1997). Эффект ЦН проявляется в повышенной эмбриональной смертности среди потомства от скрещивания инфицированных репродуктивным паразитом самцов с самками либо свободными от бактерии, либо пораженными другим штаммом. Обратное же скрещивание инфицированной самки с любым самцом (инфицированным или нет) не вызывает подобных нарушений. Таким образом, манипулируя репродуктивными функциями организма-хозяина, бактерия повышает частоту инфицированных особей в популяции. ЦН считается основным фенотипом, вызываемым *Wolbachia* (Werren, 1997). Уровень и тип ЦН зависят от штамма бактерии, а также от генотипа организма-хозяина (O'Neill et al., 1997; Poinset et al., 1998).

ЦН у *D. melanogaster* была впервые описана в работе Хоффманна с соавт. (Hoffmann, 1988) в

скрещиваниях между особями из австралийских популяций Мельбурна (Melbourne) и Таунсвилля (Townsville). Уровень несовместимости наблюдался чрезвычайно низкий – только 10–25% яиц не развивались в лабораторных скрещиваниях (Hoffmann, 1988), тогда как ранее описанная ЦН в скрещиваниях между особями *Drosophila simulans* характеризовалась высоким уровнем гибели эмбрионов (развивались меньше 10% яиц) (Hoffmann et al., 1986). Позже было показано, что уровень ЦН у *D. simulans* варьирует от 0 до 100%, и степень проявления этой модификации определяется штаммом бактерии, а не генотипом *D. simulans* (Rousset, de Stordeur, 1994). В различных скрещиваниях лабораторных линий *D. melanogaster* уровень ЦН отличался, но был всегда низким (до 30%) (Hoffmann et al., 1994). В то же время в работе Хоффманна с соавт. (Hoffmann et al., 1998) проведен анализ ЦН не в скрещиваниях лабораторных линий, а так называемой полевой ЦН (у особей, взятых непосредственно из природы). Такой анализ показал, что уровень полевой ЦН у самок близок к нулю, а процент развившихся яиц в скрещиваниях инфицированных самцов из природы с неинфицированными лабораторными самками не отличается от такового в скрещиваниях самок с неинфицированными самцами. Кроме того, было показано, что уровень неразвившихся яиц статистически достоверно отличается в скрещиваниях инфицированных самцов после пяти поколений разведения в лабораторных условиях с инфицированными и неинфицированными самками. Такой результат говорит о том, что уровень ЦН возрастает при переводе линий к лабораторному разведению, т.е. к близкородственному в той или иной степени скрещиванию. Причины такого явления до сих пор не выяснены.

То, что *Wolbachia* вызывает у *D. melanogaster* низкий уровень ЦН, подтверждают следующие два эксперимента. В работе Бойл с соавт. (Boyle et al., 1993) произведен перенос штамма wRi бактерии из *D. simulans* в *D. melanogaster*. Данный штамм вызывает 100% ЦН у своего природного хозяина, но у *D. melanogaster* наблюдалась только 30%-ная эмбриональная смертность. В результате отбора авторам удалось получить достаточно высокий уровень ЦН (80%) у *D. melanogaster*, который коррелировал с возрастанием титра бактерии в яйце. Во второй работе Пуансот с соавт. (Poinsot et al., 1998) производили инъекции штамма wMel из *D. melanogaster* в *D. simulans*. Данный штамм вызывает ЦН менее 30% у природного хозяина, а у *D. simulans* этот показатель достиг 100% в нескольких поколениях. Авторы не установили корреляции между уровнем несовместимости и

титром бактерии, однако они показали, что ЦН зависела от процента инфицированных цист в гонадах самцов. В инъекционной линии *D. simulans* более чем 80% цист были инфицированы, тогда как у *D. melanogaster* этот показатель составлял только около 8%. Предполагается, что *D. melanogaster* значительно снижает ЦН посредством контроля развития *Wolbachia* в гонадах. Кроме того, в работе Венети с соавт. (Veneti et al., 2003) был произведен анализ уровня ЦН и процента инфицированных цист в гонадах самцов в нескольких системах *Wolbachia*/организм-хозяин. В результате было показано, что уровень ЦН зависит от количества инфицированных цист не всегда. Делается предположение, что для экспрессии ЦН необходимо несколько условий, а именно – бактерия должна иметь модифицирующий генотип, она должна инфицировать цисты в гонадах самцов, а также ею должен быть инфицирован вид, который в принципе способен к ЦН (Veneti et al., 2003). Кроме того, показано, что уровень ЦН у *D. melanogaster* зависит от возраста самца: он выше при скрещивании молодых инфицированных самцов (Reynolds, Hoffmann, 2002). Все вышесказанное позволяет сделать вывод, что, не смотря на проведенные эксперименты, молекулярные механизмы ЦН остаются не выяснены.

Поскольку *Wolbachia* передается трансвариально, так же как и митохондрии, и локализуется в цитоплазме яиц, то штамм бактерии должен ассоциированно передаваться с митохондриальным гаплотипом. Именно такая картина наблюдается у *D. simulans* – три группы штаммов *Wolbachia* (в зависимости от типа ЦН) ассоциированы с тремя известными митохондриальными гаплотипами (siI, siII и siIII) (Dean et al., 2003). Случайное распределение митохондриальных гаплотипов может также меняться за счет распространения определенного штамма *Wolbachia*, который дает особям какое-либо приспособительное преимущество. В природных популяциях *D. melanogaster* обнаружен только штамм wMel, и он не ассоциируется с типом митохондриальной ДНК *D. melanogaster* (Solignac et al., 1994). После того как данный штамм удалось разделить на несколько генотипов по пяти маркерам (количество двух вариативных tandemных повторов (variable number tandem repeats (VNTR)), наличие двух инсерционных сиквенсов (insertion sequences (IS5)) и направление инверсии) (Riegler et al., 2005), было показано, что распределение генотипов бактерии среди линий *D. melanogaster* с различными гаплотипами мтДНК является все же не случайным (Nunes et al., 2008). В работе Ю.Ю. Илинского и И.К. Захарова (Ilinsky, Zakharov, 2006) показана

четкая ассоциация инфекционного статуса и гаплотипа гена цитохром оксидазы 1 субъединицы (cytochrome oxidase I (COI)) мтДНК в природной популяции Умани. Анализ инфекционного статуса и гаплотипа особей в трех природных популяциях Крита на протяжении 8 лет сборов показал одновременное распространение определенного гаплотипа mtDNA и генотипа бактерии *wMel* (Nunes et al., 2008). В то же время анализ большего числа линий, собранных в разное время из разных мест, показал неслучайность наследования гаплотипа mtDNA и генотипа бактерии при отсутствии четкой сопряженности. Такие данные могут указывать на возможность горизонтального переноса *Wolbachia* между особями *D. melanogaster* с различными гаплотипами.

Кроме того, имеются данные об ассоциации генотипа *Wolbachia* с определенным цитотипом в отношении транспозона P в линиях *D. melanogaster*. На основе анализа 60 инфицированных *Wolbachia* лабораторных линий, которые были собраны в природе в разные годы и в разных частях мира, была получена четкая корреляция между генотипом *wMelCS* и M, M' линиями *D. melanogaster*; тогда как генотип *wMel* ассоциирован как с M, так и с P цитотипом. Интересно, что генотип *wMelCS Wolbachia* обнаруживается в линиях, которые собраны до 1950 г., тогда как с 1950 г. появляется *wMel*, который и является наиболее распространенным в собранных недавно культурах мух. Такая ситуация очень напоминает географически и временно инвазию P-элемента в природных популяциях *D. melanogaster* (Riegler et al., 2005).

Таким образом, имеющиеся в литературе данные указывают на то, что ЦН не является механизмом, который обеспечил бы повсеместное распространение *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster*. В то же время наблюдается сопряженность инфицирования *Wolbachia* определенного генотипа и некоторых маркеров, таких, как тип митохондриальной ДНК и цитотип, создаваемый P-элементом. Такая ситуация может быть следствием другого механизма, позволяющего преобладать бактерии в природных популяциях данного вида и вместе с ней определенным наследуемым маркерам.

ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИИ НА ПРИСПОСОБЛЕННОСТЬ ОСОБЕЙ

Для выяснения возможного преимущества, которое бактерия дает инфицированным особям *D. melanogaster*, был проведен ряд экспериментов

по оценке приспособленности инфицированных и неинфицированных особей (Hoffmann et al., 1994, 1998). Прежде всего, оценке подвергались плодовитость инфицированных особей в сравнении с неинфицированными, которые имели одинаковый генотип, исключая присутствие бактерий, которые удалялись посредством воздействия антибиотика. В эксперименте не было установлено достоверных отличий в плодовитости инфицированных и неинфицированных самок (Hoffmann et al., 1994). Следует отметить, что *Wolbachia*, которая инфицирует *D. simulans*, вызывает у этого вида понижение плодовитости инфицированных особей (Hoffmann et al., 1990). Не удалось доказать влияние *Wolbachia* и на морфометрические характеристики *D. melanogaster*, такие, как флуктуирующая асимметрия и длина торакса (Hoffmann et al., 1998). В то же время некоторые более поздние исследования свидетельствуют о наличии потенциальных приспособительных эффектов, связанных с данной бактерией. Так, Олсен с соавт. (Olsen et al., 2001) показали повышение плодовитости, ассоциированное с *Wolbachia* в некоторых природных популяциях *D. melanogaster* Австралии. Исходя из таких данных, авторы работы делают предположение, что эффект бактерии зависит не только от штамма бактерии, но и от генома организма-хозяина (Olsen et al., 2001). Попытки Фрай с соавт. (Fry et al., 2004) оценить влияние *Wolbachia* на выживаемость дали противоречивые результаты – от её снижения до повышения у инфицированных особей из разных линий. Но в отличие от работы Хоффманна с соавт. (Hoffmann et al., 1998), Фрай с соавт. (2004) показали снижение плодовитости у инфицированных самок трех из четырех исследованных линий (Fry et al., 2004). Разницы в жизнеспособности инфицированных и неинфицированных особей они не обнаружили, но, так же как и Олсен с соавт. (Olsen et al., 2001), продемонстрировали снижение жизнеспособности у инфицированных особей одной популяции при том, что в другой популяции наблюдали небольшое повышение жизнеспособности.

Кроме того, было показано, что сперма инфицированных *Wolbachia* самцов выигрывает в конкуренции с неинфицированной спермой (Hoffmann et al., 1998). Подобный эффект известен и для *D. simulans* (Hoffmann et al., 1990).

Показано влияние *Wolbachia* и на половое поведение самцов *D. melanogaster* и *D. simulans*. Наблюдается увеличение частоты спаривания у инфицированных *Wolbachia* самцов обоих видов по сравнению с неинфицированными, но проявление эффекта отличается: у инфицированных самцов

D. simulans частота спаривания выше на 49.01%, тогда как у инфицированных самцов *D. melanogaster* наблюдается увеличение частоты спаривания лишь на 15.9%. При этом интервал между спариваниями выше у инфицированных самцов *D. simulans* по сравнению с неинфицированными. У самцов *D. melanogaster* интервал между спариваниями у инфицированных и неинфицированных особей не отличается, а увеличение частоты спаривания связано с меньшим временем процесса копуляции. Установлено также, что частота спаривания инфицированных самцов не зависит от размера особи, тогда как у неинфицированных наблюдается такая зависимость. Размер самцов не коррелирует с инфекционным статусом у представителей обоих видов (Champion de Crespigny et al., 2006). Кроме того, показано, что инфицированность *Wolbachia* влияет на предпочтение в спаривании особей *D. melanogaster*. Присутствие бактерии обеспечивало положительную ассортативность по статусу зараженности при выборе партнера для спаривания у дрозофил, геном которых содержал две делеционные мутации в X хромосоме, в то же время инфицированность *Wolbachia* придавала отрицательную ассортативность по статусу зараженности у самцов, которые более близки к дикому типу. Полученный результат, с одной стороны, свидетельствует о возможности быстрого распространения бактерии в популяциях за счет избирательности в спаривании, а с другой – на возможное формирование подразделенности популяции по признакам в стрессовых условиях (Markov et al., 2009).

Следует отметить тот факт, что указанные выше работы описывают эффекты бактерии у инфицированных особей *D. melanogaster* в стандартных условиях – при достатке пищи и температуре 25 °C, но в природе такие условия можно встретить далеко не всегда. Чаше особи из природных популяций подвергаются избыточному либо слабому влиянию какого-либо фактора. В работе Харкомбе и Хоффманна (Harcombe, Hoffmann, 2004) показано, что *Wolbachia* не влияет на адаптацию особей *D. melanogaster* к температурному шоку и недостатку питания. Авторы провели эксперименты по изучению влияния бактерии на следующие показатели: устойчивость взрослых особей к голоду, приспособленность личинок, которые выросли на бедной среде, толерантность особей к тепловому шоку (время нокдауна и способность к акклиматизации), а также плодовитость самок и фертильность самцов при действии теплового шока. Авторы делают вывод, что широкое распространение бактерии в природных популяциях данного вида не зависит от

влияния на организм-хозяина во время теплового и пищевого стрессов (Harcombe, Hoffmann, 2004). В то же время Н.Я. Вайсман с соавт. (2009) было показано увеличение продолжительности жизни инфицированных особей *D. melanogaster* при повышенной температуре (29 °C) в сравнении с неинфицированными особями. Но такой эффект проявился не во всех исследуемых линиях (4 из 5 линий). Кроме того, в работе Броунли с соавт. (Brownlie et al., 2009) показано, что *Wolbachia* штамма wMel способна увеличивать плодовитость особей *D. melanogaster*, выращенных на среде с недостатком и переизбытком железа. Авторами показано также, что количество накопленного железа особями из различных природных популяций Австралии отличается между собой и сопоставимо с количеством железа, накопленного особями, выращенными на среде с недостатком данного металла или с его нормальным количеством. Увеличение количества железа в пище приводит к окислительному стрессу у большинства насекомых, *Wolbachia* каким-то образом способна уменьшать такой эффект (Brownlie et al., 2009).

В то время как имеется масса данных по изучению эффектов *Wolbachia* на репродуктивные функции *D. melanogaster*, очень мало известно о влиянии бактерии на другие аспекты биологии организма-хозяина, хотя она инфицирует не только репродуктивные органы, но обнаруживается и в других тканях. В лабораторных линиях *D. melanogaster* обнаружен вирулентный штамм бактерии wMelPop. Данный штамм вызывает дегенерацию нервных и мышечных тканей и, как следствие, раннюю гибель особей (Min, Benzer, 1997). В природных популяциях *D. melanogaster* wMelPop не обнаружен. Кроме того, показано влияние *Wolbachia* на локомоторный ответ на обонятельные сигналы *D. melanogaster* и *D. simulans*. И локомоция, и обоняние критически необходимы для нахождения пищи и спаривания, а значит, и для экологического успеха. Штаммы *Wolbachia* wMel и wMelPop снижают быстроту ответа на пищевой сигнал у *D. melanogaster*, не влияя на общую локомоцию, тогда как штамм wRi повышает уровень общей двигательной активности, так же как и активности в ответ на пищевой сигнал (Peng et al., 2008).

Кроме того, такой аспект взаимодействия бактерии с организмом хозяина, как влияние *Wolbachia* на генетические механизмы последнего, почти не исследовались, несмотря на то, что бактерия в высоких титрах находится в яичниках и яйцах инфицированных особей. Показано только, что бактерия не влияет на процесс гомологиче-

ской рекомбинации или кроссинговера. В работе С.В. Серга с соавт. (2010) показано, что на участке X хромосомы между генами *w* и *ct* такого влияния не обнаруживается. Также *Wolbachia* не влияет на мейотическую рекомбинацию у мутантов по гену *Sxl* (Sun, Cline, 2009). Известно, что мутации по данному гену либо летальны для самок, либо приводят к стерильности мутантных особей, вызывая и нарушения кроссинговера. Бактерия восстанавливает фертильность мутантных особей (Starr, Cline, 2002), но при этом никак не влияет на мейотическую рекомбинацию у них (Sun, Cline, 2009).

Таким образом, после того как стало понятно, что *Wolbachia* не вызывает значительных уровней ЦН у особей *D. melanogaster*, но в то же время является чрезвычайно распространенной в природных популяциях данного вида по всему миру, возникло предположение, что преимущество инфицированным особям бактерия обеспечивает каким-то иным образом. Такое преимущество могло бы состоять в лучшей приспособленности инфицированных особей, тем самым позволяя распространиться и самой бактерии. Но до сих пор в литературе имеются противоречивые данные, и однозначного ответа на вопрос, повышает ли *Wolbachia* приспособленность инфицированных особей *D. melanogaster*, ещё нет.

ВЛИЯНИЕ *WOLBACHIA* НА АКТИВНОСТЬ ГЕНОВ ОРГАНИЗМА-ХОЗЯИНА *D. MELANOGASTER*

В геноме *Wolbachia* присутствуют гены, кодирующие компоненты секреторной системы типа IV (Type IV secretion system (T4SS)) (Masui et al., 2000). T4SS является механизмом выделения патогенными бактериями своих белков, способствующих изменениям физиологии клетки-хозяина. Присутствие такой системы у *Wolbachia* может указывать на потенциальное влияние на экспрессию генов клетки-хозяина как механизма для выживания бактерий. Наличие T4SS было показано для ряда штаммов бактерии, включая *wMel*, хозяином которого является *D. melanogaster* (Wu et al., 2004). Гены, кодирующие белки данной системы, объединены в два оперона (Masui et al., 2000; Wu et al., 2004; Rances et al., 2008), подобно организации таких генов у риккетсий. В состав одного из оперонов входит и экспрессируется ген поверхностного белка *wspB* (Wu et al., 2004). Роль данного белка в функционировании T4SS пока не выяснена. В геноме бактерии имеются ещё два гена поверхностных белков *wspA* и *wspC*. Ген *wspA* является штаммоспецифичным, и на основе

сравнения его последовательностей проводится классификация *Wolbachia* (Zhou et al., 1998). Считается, что белок WspA играет важную роль при взаимодействии бактерии с клеткой-хозяином. Кроме того, было показано участие данного белка в ингибировании апоптоза в PMN (polymorphonuclear) клетках (Bazzocchi et al., 2007).

Интересным является тот факт, что в геноме *Wolbachia* имеются не только гены системы, которая способна вводить белки бактерии в клетку хозяина, но и белки с анкириновыми повторами, которые считаются типично эукариотическими регуляторными белками и присутствуют в геномах только некоторых прокариот. В геноме штамма *wMel* обнаружено 23 таких белка. Считается, что большинство данных белков задействовано в регуляции клеточного цикла клетки-хозяина или её цитоскелета (Wu et al., 2004). Кроме того, было показано, что гены белков с анкириновыми повторами экспрессируются различно в гонадах самцов и самок и что их экспрессия зависит от штамма бактерии и генетического окружения (Parafotiu et al., 2011). Наличие белков с анкириновыми повторами и системы для их выведения свидетельствует о потенциальной возможности изменять бактерией экспрессию генов организма-хозяина.

В работе Кси с соавт. (Xi et al., 2008) показано влияние *Wolbachia* на экспрессию генов в культуре клеток *Drosophila* S2, которые содержали и не содержали *Wolbachia*. Уровень экспрессии 263 генов статистически достоверно отличался в инфицированных и неинфицированных клетках – 140 генов повышали свою экспрессию в присутствии *Wolbachia*, 73 гена понижали уровень экспрессии в инфицированных клетках по сравнению с неинфицированными.

Наибольшее увеличение экспрессии в инфицированных клетках наблюдалось для гена *Ance*, который связывают с ЦН (Poinsot et al., 2003). В работе обнаружено также изменение экспрессии 20 генов, продукты которых ассоциированы с размножением. Большинство из них принимают участие в оогенезе – *spire* (*spir*: 2.54), *Myb-interacting protein 130* (*mip130*: 1-), *puckered* (*puc*: 3-47.6), *Jun-related antigen* (*Jra*:2-60), *locomotion defects* (*loco*: 3-), *argos* (3-), *oskar* (*osk*: 3-48.4), *encore* (*enc*: 3-5.3), *spinster* (*spin*: 2-), *spatzle* (*spz*: 3-92), *gigas* (*gig*: 3-46) (увеличение экспрессии), *brainiac* (*brn*: 1-5.9), *sprouty* (*sty*: 3-), *jagunal* (*jagn*: 3-), *Sex lethal* (*Sxl*: 1-19.2) (снижение экспрессии), но часть не принимает участия в оогенезе – *wunen* (*wun*: 2-), *modifier of mdg4* (*mod(mdg4)*: 3-70.7) (увеличение

экспрессии), *noisette (noi: 3-)* (снижение экспрессии). Также зафиксировано увеличение экспрессии гена *lethal (2) giant larvae (l(2)gl: 2-0.0)*. Считается, что данный ген вместе с *zipper (zip:2-107)* принимает участие в механизмах ЦН (Clark et al., 2006), так как показана их повышенная экспрессия в мимикрической ЦН (несовместимость при скрещиваниях, обусловленная не эндосимбиотическими бактериями, а другими факторами, например, наследственными). Кроме того, следует отметить, что в инфицированных клетках наблюдается снижение транскрипции гена *Sxl* – одного из ключевых генов в определении пола у *D. melanogaster*. Ранее было показано, что бактерия непосредственно не влияет на уровень экспрессии данного гена (Starr, Cline, 2002). В настоящее время известно множество аллелей гена *Sxl*, большинство из которых являются летальными для самок, тогда как некоторые аллели, несущие точечные мутации в данном гене, являются жизнеспособными, но самки стерильны (Peggimon et al., 1986). Показано, что *Wolbachia* способна восстанавливать фертильность самок *D. melanogaster*, мутантных по аллелям *Sxl*. Эффект оказался аллелеспецифичным и не проявлялся для мутаций в других генах, вызывающих подобный (ovarian tumor) фенотип, что указывает на взаимодействие бактерии с самим белком, а не геном, кодирующим его (Starr, Cline, 2002).

Установлено снижение экспрессии генов белков теплового шока (HSP) в инфицированных *Wolbachia* клетках. Так, из протестированных 27 генов *hsp* у 11 (41%) наблюдается снижение экспрессии. Неожиданно то, что не наблюдается повышение экспрессии генов данной группы, хотя известным является тот факт, что уровень экспрессии генов *hsp* увеличивается в ответ на стрессовые воздействия, включая бактериальные инфекции. При инфицировании клеток *Wolbachia* такого эффекта не наблюдается, что может означать возможность подавления активности данных генов бактерией (Xi et al., 2008).

Следует отметить, что гены антибактериального гуморального иммунитета являются генами с увеличенной экспрессией в инфицированных клетках, причем увеличение экспрессии характерно именно для генов, продукты которых участвуют в иммунных сигнальных каскадах, таких как *Toll* и *Imd*. Среди них два важных регуляторных пептида: *Relish (Rel)* и *Dorsal (Dl)*, антимикробные пептиды *attacin (A, B, C и D)* и *dipericin B*. В то же время *ird5* и *peroxiredoxin 2540* характеризуются сниженным уровнем экспрессии в инфицированных клетках (Xi et al., 2008).

Кроме того, в клетках, инфицированных *Wolbachia*, увеличивается экспрессия генов, которые отвечают за негативную регуляцию клеточной пролиферации, обмен ионов, развитие личинки. Гены, отвечающие за ответ на химические стимулы, морфогенез тканей, РНК-сплайсинг и позитивную регуляцию транскрипции в инфицированных бактерией клетках, характеризуются снижением уровня экспрессии (Xi et al., 2008).

Было показано, что *Wolbachia* способна влиять на метаболизм железа *Asobara tabida*. *Wolbachia* – симбионт паразитической осы *Asobara tabida* (Hymenoptera, Braconidae) – необходима для нормального прохождения оогенеза. В отсутствие бактерии у данного вида нарушается клеточный цикл, что приводит к нарушению развития яиц. При отсутствии *Wolbachia* наблюдается увеличение экспрессии двух генов ферритина – белка, участвующего в метаболизме железа и имеющего антиоксидантные свойства. Кроме того, бактерия снижает смертность *A. tabida* в результате переизбытка железа. Показано также, что бактерия влияет на метаболизм железа у *D. simulans* и в культуре клеток комара *Aedes aegypti*, инфицированного штаммом *wMel*, но характер влияния отличается от такового у *A. tabida*. Инфицированные особи *D. simulans* поглощают больше железа из среды с его избытком, чем неинфицированные. При этом экспрессия генов ферритина возрастает при избытке железа относительно контроля, но не зависит от инфекции (экспрессия одного гена незначительно снижается у инфицированных особей). Интересно, что при избытке железа возрастает экспрессия бактериоферритина – бактериального аналога ферритина. Так как не обнаружено фенотипических эффектов бактерии на морфометрические характеристики и плодовитость инфицированных особей, то, вероятно, дрозфила адаптирует свой метаболизм к присутствию *Wolbachia* при избытке железа. Подобный результат получен и на линии клеток *A. aegypti* (Kremer et al., 2009).

В работе Икея с соавт. (Ikeya et al., 2009) показано, что *Wolbachia* способна влиять на Insulin/IGF-like signalling (IIS) – один из эволюционно консервативных сигнальных путей, который имеет многообразные функции у многоклеточных организмов. Мутации, которые ослабляют IIS, могут иметь плейотропные эффекты на рост, развитие, метаболизм, плодовитость, стрессоустойчивость и продолжительность жизни. Было продемонстрировано, что удаление *Wolbachia* из мутантных линий с ослабленным IIS, способствует усилению мутантного фенотипа.

Такой результат свидетельствует о том, что бактерия в норме поддерживает IIS сигнальный путь (Ikeya et al., 2009).

Из выше описанного можно сделать вывод, что *Wolbachia* способна влиять на метаболизм организма-хозяина, о чем свидетельствует изменение экспрессии генов, продукты которых задействованы в различных процессах в организме, в инфицированных клетках, а также описанное воздействие бактерии на метаболизм железа и IIS сигнальный путь. При этом не обнаружено сильного влияния бактерии на гены иммунной системы, кроме увеличения экспрессии генов, продукты которых задействованы в синтезе антимикробных пептидов, что синтезируются в ответ на попадание в организм грамм-негативной бактерии.

ВЛИЯНИЕ WOLBACHIA НА УСТОЙЧИВОСТЬ К ИНФЕКЦИОННЫМ АГЕНТАМ

Поскольку никакого явного эффекта *Wolbachia* на приспособительные функции особей *D. melanogaster* в природе выявить не удалось, а, с другой стороны, стало понятно, что бактерия влияет на экспрессию некоторых генов иммунной системы, то возникло предположение, что *Wolbachia* способна воздействовать на иммунную систему дрозofilы, обеспечивая себе тем самым такое широкое распространение в природе. Почти одновременно вышли две независимые работы, которые описывают значительное снижение уровня инфекции *Drosophila* вирусом С (сем. Dicistroviridae) у особей из различных линий *D. melanogaster* в присутствии *Wolbachia* (Teixeira et al., 2008; Hedges et al., 2008). Было показано, что происходит эффект задержки смертности, вызванной вирусом, у инфицированных бактерией особей по сравнению с особями, которые имеют сходный генотип, но являются вылеченными от *Wolbachia* посредством антибиотика. При введении вируса в имаго, не зараженных *Wolbachia*, на 4–6-й день после инъекции происходит 100%-ная гибель всех инфицированных вирусом особей. В присутствии *Wolbachia* наблюдается другая картина – критические 4–6 дней после инъекции особи переживают нормально, а гибель происходит после 10-го дня. Вместе с задержкой смертности наблюдается задержка увеличения титра вируса у инфицированных особей. На 2-й день после инъекции титр вируса у неинфицированных бактерией особей значительно выше, чем у инфицированных. В то же время на 7-й день после

инъекции у инфицированных *Wolbachia* особей титр вируса достигает уровня второго дня после инъекции у неинфицированных особей (Teixeira et al., 2008). При этом сходный противовирусный эффект проявлялся и для других РНК-вирусов: cricket paralysis virus (CrPV) (Hedges et al., 2008), Nora virus, Flock house virus (FHV) (Teixeira et al., 2008), и отсутствовал какой-либо эффект влияния бактерии при введении в имаго ДНК-вирусов, которые содержат двухцепочечную ДНК (Insect Iridescent Virus 6) (Teixeira et al., 2008).

В этой связи хотелось бы отметить, что в природных популяциях *D. melanogaster* обнаружены только РНК-вирусы (Ashburner et al., 2005) и нет свидетельств, что ДНК-вирусы инфицируют данный вид в природе. Так, одним из наиболее распространенных и изученных является DCV. Он был впервые обнаружен в природной популяции во Франции (Charolles) в 1972 г. (Jousset et al., 1972). DCV передается через контаминированную пищу и не показывает никаких патогенных эффектов у инфицированных на личиночной стадии особей. В то же время при инъекции вируса имаго наблюдается быстрая гибель особей в течение 3–4 дней после инъекции, что свидетельствует о патогенности DCV. Интересен тот факт, что вирус влияет на репродуктивные способности инфицированных на личиночной стадии особей. Инфицированные особи имеют больший репродуктивный потенциал, чем неинфицированные – они развиваются быстрее, самки имеют большие размеры, большее количество овариол в гонадах и лучшую плодовитость по сравнению с неинфицированными самками с таким же генотипом (Thomas-Orillard, 1984). Возможно, взаимодействуя с DCV, *Wolbachia* и получила неоспоримое преимущество в распространении в популяциях *D. melanogaster*. Хотя вопрос о том, как именно взаимодействуют вирус и бактерия в природе, остается открытым, поскольку влияние *Wolbachia* на особей, зараженных через контаминированную пищу на стадии личинки, не исследовалось.

Вирусные частицы DCV присутствуют в трахеальных клетках вокруг церебрального ганглия, в мышечных клетках вокруг кишечной трубки, в жировом теле, в клетках мальпигиевых сосудов и овариол, в фолликулярных клетках (Thomas-Orillard, 1984). В последних трех типах клеток также обнаруживается и *Wolbachia* в высоких титрах (Saridakis, Bourtzis, 2010), т.е. вирус и бактерия пространственно объединены в одной клетке и могут каким-либо образом взаимодействовать. Механизмы вызываемой бактерией резистентно-

сти к вирусу пока не выяснены, но нельзя исключить два возможных сценария – либо *Wolbachia* мобилизует иммунную систему дрозифилы, вызывая быстрый ответ на появление вируса, либо бактерия непосредственно воздействует на вирус, не давая ему размножаться.

Описанный эффект увеличения резистентности к вирусным инфекциям в присутствии *Wolbachia* не является универсальным. Так, в экспериментах на *D. simulans* показано, что не все штаммы бактерии характеризуются таким эффектом. Вид *D. simulans* инфицируют больше шести штаммов *Wolbachia* (O'Neill et al., 1997), которые обнаружены в природных популяциях данного вида, тогда как в природных популяциях *D. melanogaster* идентифицирован только один штамм wMel (Riegler et al., 2005). В работе Осборн с соавт. (Osborne et al., 2009) проведен анализ влияния инфицирования пятью штаммами, природным хозяином которых является *D. simulans*, и штаммом wMel *Wolbachia* особей *D. simulans* на резистентность к DCV и FHV. Анализ показал эффект задержки развития DCV и вирус-зависимой смертности инфицированных штаммом wMel особей *D. simulans*, подобно тому как данный штамм ведет себя, взаимодействуя с особями *D. melanogaster*. Полученный результат может говорить о том, что увеличение резистентности инфицированных особей к РНК-вирусам является особенностью данного штамма *Wolbachia* и не зависит от генетического окружения хозяина, так как он ведет себя одинаково как в различных линиях *D. melanogaster*, так и у вида *D. simulans*. Относительно штаммов wAu и wRi известно, что они повышают резистентность инфицированных особей *D. simulans* к DCV и FHV, тогда как штаммы wNo и wHa не влияют на устойчивость к вирусным инфекциям. Кроме того, эффект различается и между штаммами. Так, для wAu показана высокая резистентность к DCV – на 30-й день после инъекции более 90% особей оставались живыми, тогда как неинфицированные *Wolbachia* особи погибали на 10-й день после инъекции вируса. В присутствии штамма wRi средний период жизни после инъекции был равен 14 дням по сравнению с 6 днями у особей, неинфицированных *Wolbachia*. Однако следует отметить, что разными штаммами были инфицированы разные линии *D. simulans* и в эксперименте генетические особенности линий не учитывались. При инъекции FHV наблюдалась подобная картина, при этом задержка пролиферации DCV происходила только при инфицировании особей штаммом wAu. В работе также проведен анализ плотности *Wolbachia* у инфицированных особей *D. simulans*. Такой анализ показал, что

штаммы, увеличивающие резистентность к вирусным инфекциям, имеют большую плотность, чем штаммы, таким эффектом не характеризующиеся (Osborne et al., 2009). Выяснение реальных причин установленной зависимости между резистентностью особей к вирусам и плотностью вольбахиальной инфекции требуют дальнейших исследований.

Эффект увеличения резистентности к вирусным инфекциям под действием *Wolbachia* показан не только для *D. melanogaster* и *D. simulans*. Инфицирование в норме не инфицированных вольбахией комаров *Aedes aegypti*, адаптированным к существованию в них (на протяжении 250 поколений содержания в клеточной линии этих организмов) штаммом wMelPop, приводит к уменьшению продолжительности жизни и увеличению резистентности к инфекции dengue virus (DENV; Flaviviridae) и Chikungunya virus (CHIKV; Togaviridae) (Bian et al., 2010; Moreira et al., 2009), а также *Plasmodium gallinaceum* (Moreira et al., 2009). Инфицирование *A. aegypti* штаммом *Wolbachia* wAlbB, хозяином которого является *Aedes albopictus*, повышает устойчивость *A. aegypti* к вирусам, но при этом инфицирование вида-хозяина данным штаммом не влияет на устойчивость к вирусным инфекциям (Bian et al., 2010; Frentiu et al., 2010). Кроме того, *Wolbachia* увеличивает резистентность ещё одного вида комаров – *Culex quinquefasciatus* – к инфицированию West Nile virus (WNV; Flaviviridae) (Glaser, Meola, 2010). Такой же эффект *Wolbachia* на инъекцию WNV проявляется и для *D. melanogaster*. Было показано, что инфицированные бактерией особи *D. melanogaster* имеют в 500 раз выше инфекционную дозу ID50 (50% infectious dose) WNV, чем неинфицированные. В то же время инфицирование бактерией имеет значительно меньший эффект на резистентность плодовой мушки к другим вирусам, хозяином которых является *C. quinquefasciatus*, – Chikungunya (Togaviridae) и La Crosse (Bunyaviridae) (Glaser, Meola, 2010).

Все выше изложенное позволяет предположить наличие общего, не видоспецифического, механизма устойчивости к вирусным инфекциям, обусловленного инфекцией *Wolbachia*.

Влияние *Wolbachia* на бактериальные инфекции *D. melanogaster* ранее не исследовались, кроме работы, посвященной взаимодействию *Wolbachia* с репродуктивным паразитом *Spiroplasma* (Goto et al., 2006). В работе показано, что *Wolbachia* не влияет на титр *Spiroplasma* в инфицированных двумя микроорганизмами особях *D. melanogaster*. В то же время титр *Wolbachia*

значительно ниже в особях, инфицированных двумя бактериями, чем в особях, инфицированных только *Wolbachia* (Goto et al., 2006). Кроме того, известно, что *Wolbachia* никак не влияет на эффект андроцида, вызываемый *Spiroplasma* у *D. melanogaster* (Montenegro et al., 2006). В природных популяциях *D. melanogaster*, где обнаружена *Spiroplasma*, также присутствует и *Wolbachia* (Montenegro et al., 2006; Pool et al., 2006; Serga et al., 2010).

Особи *D. melanogaster* в природе обитают в условиях неминуемого взаимодействия с грибковыми организмами. Часть из них является патогенными для плодовой мушки. Показано, что *Wolbachia* увеличивает резистентность особей *D. melanogaster* к грибу *Bauveria bassiana*, который является патогеном насекомых. Кроме того, показано, что инфицированные бактерией особи демонстрируют изменения в субстратных предпочтениях (Panteleev et al., 2007).

На первый взгляд может показаться, что причина столь широкого распространения *Wolbachia* в природных популяциях плодовой мушки решена, однако в природных условиях инфицирование имаго путем инъекций является делом проблематичным, даже если гипотетически и предположить его возможность. С другой стороны, описанные феномены задержки развития вируса могли развиться вследствие уже широко существующей инфекции, а не быть причиной ее распространения. Возможно, установление механизмов задержки вирус-зависимой смертности помогут решить эти загадки.

ВЫВОДЫ

Длительное сосуществование микроорганизма с организмом-хозяином приводит к тому, что они приспособляются к существованию друг с другом и с другими микроорганизмами, обитающими в пределах организма-хозяина. Имеющиеся на сегодняшний день данные о взаимоотношениях *Wolbachia* и *D. melanogaster* указывают на образование взаимовыгодной системы эндосимбионт – насекомое. Поскольку особенностей влияния бактерии на инфицированных особей *D. melanogaster* установлено множество, то выделить из них какой-либо один фактор, позволивший широко распространиться бактерии в природе, не удалось. Одно несомненно, *Wolbachia* имеет комплексное влияние на биологию *D. melanogaster*, и пока не будет сложен пазл многогранных взаимодействий во всем его богатстве, загадка этих взаимоотношений будет оставаться интригующей для многих исследователей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Вайсман Н.Я., Илинский Ю.К., Голубовский М.Д., 2009. Популяционно-генетический анализ продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*: сходные эффекты эндосимбионта *Wolbachia* и опухолевого супрессора *Igl* в условиях температурного стресса // Журн. общ. биологии. Т. 70. № 5. С. 438–447.
- Горячева И.И., 2004. Бактерии рода *Wolbachia* – репродуктивные паразиты членистоногих // Успехи соврем. биологии. Т. 124. № 3. С. 246–259.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К., 2007. Эндосимбионт *Wolbachia* в Евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. Т. 43. № 7. С. 905–915.
- Серга С.В., Демидов С.В., Козерецкая И.А., 2010. Инфицирование *Wolbachia* не влияет на частоту кроссинговера у *Drosophila melanogaster* // Цитология и генетика. Т. 44. № 4. С. 55–60.
- Ashburner M., Golic K., Hawley S., 2005. *Drosophila*. A Laboratory Handbook. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 1331 p.
- Ballard J.W.O., 2004. Sequential evolution of a symbiont inferred from the host: *Wolbachia* and *Drosophila simulans* // Mol. Biol. Evol. V. 21. № 3. P. 428–442.
- Bazzocchi C., Comazzi S., Santoni R. et al., 2007. *Wolbachia* surface protein (WSP) inhibits apoptosis in human neutrophils // Parasite Immunol. V. 29. P. 73–79.
- Bian G., Xu Y., Lu P., Xie Y., Xi Z., 2010. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* induces resistance to dengue virus in *Aedes aegypti* // PLoS Pathogens. V. 6. № 4: e1000833. doi:10.1371/journal.ppat.1000833.
- Boyle L., O'Neill S.L., Robertson H.M., Karr T.L., 1993. Interspecific and intraspecific horizontal transfer of *Wolbachia* in *Drosophila* // Science. V. 260. P. 1796–1799.
- Brownlie J.C., Cass B.N., Riegler M et al., 2009. Evidence for metabolic provisioning by a common invertebrate endosymbiont, *Wolbachia pipientis*, during periods of nutritional stress // PLoS Pathog. V. 5. № 4. e1000368. doi:10.1371/journal.ppat.1000368.
- Champion de Crespigny F.E., Pitt T.D., Wedell N., 2006. Increased male mating rate in *Drosophila* is associated with *Wolbachia* infection // J. Evol. Biol. V. 19. P. 1964–1972.
- Clark M.E., Heath B.D., Anderson C.L., Karr T.L., 2006. Induced paternal effects mimic cytoplasmic incompatibility in *Drosophila* // Genetics. V. 173. № 2. P. 727–734.
- Dean M.D., Ballard K.J., Glass A., Ballard J.W.O., 2003. Influence of two *Wolbachia* strains on population structure of East African *Drosophila simulans* // Genetics. V. 165. № 12. P. 1959–1969.
- Duron O., Bouchon D., Boutin S. et al., 2008. The diversity of reproductive parasites among arthropods:

- Wolbachia* do not walk alone // BMC Biolog. V. 6. № 27. doi:10.1186/1741-7007-6-27.
- Frentiu F.D., Robinson J., Young P.R., McGraw E.A., O'Neill S.L., 2010. *Wolbachia*-mediated resistance to dengue virus infection and death at the cellular level // PLoS ONE. V. 5. №10: e13398. doi:10.1371/journal.pone.0013398.
- Fry A.J., Palmer M.R., Rand D.M., 2004. Variable fitness effects of *Wolbachia* infection in *Drosophila melanogaster* // Heredity. V. 93. P. 379–389.
- Glaser R.L., Meola M.A. 2010. The native *Wolbachia* endosymbionts of *Drosophila melanogaster* and *Culex quinquefasciatus* increase host resistance to West Nile virus infection // PLoS ONE. V. 5. № 8. e11977. doi:10.1371/journal.pone.0011977
- Goto S., Anbutsu H., Fukatsu T., 2006. Asymmetrical interactions between *Wolbachia* and *Spiroplasma* endosymbionts coexisting in the same insect host // Appl. and Environ. Microbiol. V. 72. № 7. P. 4805–4810.
- Harcombe W., Hoffmann A.A., 2004. *Wolbachia* effects in *Drosophila melanogaster*: in search of fitness benefits // J. Invertebrate Pathology. V. 87. P. 45–50.
- Hedges L.M., Brownlie J.C., O'Neill S.L., Johnson K.N., 2008. *Wolbachia* and virus protection in insects // Science. V. 322. P. 702.
- Hoffmann A.A., 1988. Partial cytoplasmic incompatibility between two Australian populations of *Drosophila melanogaster* // Entomol. Exp. Appl. V. 48. P. 61–67.
- Hoffmann A.A., Turelli M., Simmons G.M., 1986. Unidirectional incompatibility between populations of *Drosophila simulans* // Evolution. V. 40. P. 692–701.
- Hoffmann A.A., Turelli M., Harshman L.G., 1990. Factors affecting the distribution of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans* // Genetics. V. 126. № 4. P. 933–948.
- Hoffmann A.A., Clancy D.J., Merton E., 1994. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster* // Genetics. V. 136. № 3. P. 993–999.
- Hoffmann A.A., Hercus M., Dagher H., 1998. Population dynamics of the *Wolbachia* infection causing cytoplasmic incompatibility in populations of *Drosophila melanogaster* // Genetics. V. 148. № 1. P. 221–231.
- Hurst G.D.D., Johnson A.P., Schulenburg J.H., Fuyama Y., 2000. Male-killing *Wolbachia* in *Drosophila*: a temperature-sensitive trait with a threshold bacterial density // Genetics. V. 156. P. 699–709.
- Ikeya T., Broughton S., Alic N., Grandison R., Partridge L., 2009. The endosymbiont *Wolbachia* increases insulin/IGF-like signalling in *Drosophila* // Proc. Biol. Sci. V. 276. № 1674. P. 3799–3807.
- Ilinsky Yu.Yu., Zakharov I.K., 2006. Genetic correlation between types of mtDNA of *Drosophila melanogaster* and genotypes of its primary endosymbiont *Wolbachia* // Dros. Inf. Serv. V. 89. P. 89–91.
- Jousset F.-X., Plus N., Croiziearn G., Thomas M., 1972. Existence chez *Drosophila* de deux groupes de Picornavirus de propriétés serologiques et biologiques différentes // C. R. Acad. Sci. Pans. V. 275. P. 3043–3046.
- Kremer N., Voronin D., Charif D., Mavingui P., Molle-reau B. et al., 2009. *Wolbachia* interferes with ferritin expression and iron metabolism in insects // PLoS Pathog. V. 5. № 10. e1000630. doi:10.1371/journal.ppat.1000630.
- Markov A.V., Lazebny O.E., Goryacheva I.I., Antipin M.I., Kulikov A.M., 2009. Symbiotic bacteria affect mating choice in *Drosophila melanogaster* // Animal Behaviour. V. 77. № 5. P. 1011–1017.
- Masui S., Sasaki T., Ishikawa H., 2000. Genes for the type IV secretion system in an intracellular symbiont, *Wolbachia*, a causative agent of various sexual alterations in arthropods // J. Bacteriol. V. 182. № 22. P. 6529–6531.
- Min K.-T., Benzer S., 1997. *Wolbachia*, normally a symbiont of *Drosophila*, can be virulent, causing degeneration and early death // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. V. 94. P. 10792–10796.
- Montenegro H., Petherwick A.S., Hurst G.D. et al., 2006. Fitness effects of *Wolbachia* and *Spiroplasma* in *Drosophila melanogaster* // Genetica. V.127. № 1–3. P. 207–215.
- Moreira L. A., Iturbe-Ormaetxe I., Jeffery J.A. (eds), 2009. A *Wolbachia* symbiont in *Aedes aegypti* limits infection with Dengue, Chikungunya and *Plasmodium* // Cell. V. 139. № 7. P. 1268–1278.
- Nunes M.D.S., Nolte V., Schlötterer C., 2008. Non-random *Wolbachia* infection status of *Drosophila melanogaster* strains with different mtDNA haplotypes // Mol. Biol. Evol. V. 25. № 11. P. 2493–2498.
- Olsen K., Reynolds K.T., Hoffmann A.A., 2001. A field cage test of the effects of the endosymbiont *Wolbachia* on *Drosophila melanogaster* // Heredity. V. 86. P. 731–737.
- O'Neill S.L., Hoffmann A.A., Werren J.H., 1997. Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction. Oxford: Univ. Press. 214 p.
- Osborne S.E., Leong Y.S., O'Neill S.L., Johnson K.N., 2009. Variation in Antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans* // PLoS Pathog. V. 5. № 11. e1000656. doi:10.1371/journal.ppat.1000656.
- Papafotiou G., Oehler S., Savakis C., Bourtzis K., 2011. Regulation of *Wolbachia* ankyrin domain encoding genes in *Drosophila* gonads // Res. Microbiol. V. 162. № 8. P. 764–772.
- Panteleev D.Iu., Goriacheva I.I., Andrianov B.V. et al., 2007. The endosymbiotic bacterium *Wolbachia* enhances the nonspecific resistance to insect pathogens and alters behavior of *Drosophila melanogaster* // Russian J. Genetics. V. 43. № 9. P. 1277–1280.

- Peng Y., Nielsen J. E., Cunningham J.P., McGraw E. A., 2008. *Wolbachia* infection alters olfactory-cued locomotion in *Drosophila* spp. // Appl. and Environ. Microbiol. V. 74. № 13. P. 3943–3948.
- Perrimon N., Mohler D., Engstrom L., Mahowald A.P., 1986. X-linked female-sterile loci in *Drosophila melanogaster* // Genetics. V. 113. № 3. P. 695–712.
- Poinsot D., Charlat S., Mercot H., 2003. On the mechanism of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility: confronting the models with the facts // Bioessays. V. 25. № 3. P. 259–265.
- Poinsot D., Bourtzis K., Markakis G., Savakis C., Mercot H., 1998. Injection of a *Wolbachia* from *Drosophila melanogaster* into *D. simulans*: host effect and cytoplasmic incompatibility relationships // Genetics. V. 150. № 9. P. 227–237.
- Pool J.E., Wong A., Aquadro C.F., 2006. Finding of male-killing *Spiroplasma* infecting *Drosophila melanogaster* in Africa implies transatlantic migration of this endosymbiont // Heredity. V. 97. P. 27–32.
- Reynolds K.T., Hoffmann A.A., 2002. Male age, host effects and the weak expression or non-expression of cytoplasmic incompatibility in *Drosophila* strains infected by maternally transmitted *Wolbachia* // Genet. Res. V. 80. P. 79–87.
- Rances E., Voronin D., Tran-Van V., Mavingui P., 2008. Genetic and functional characterization of the type IV secretion system in *Wolbachia* // J. Bacteriol. V. 190. P. 5020–5030.
- Riegler M., Sidhu M., Miller W.J., O'Neill S.L., 2005. Evidence for global *Wolbachia* replacement in *Drosophila melanogaster* // Current Biology. V. 15. P. 1428–1433.
- Rousset F., de Stordeur E., 1994. Properties of *Drosophila simulans* strains experimentally infected by different clones of the bacterium *Wolbachia* // Heredity. V. 71. P. 325–331.
- Saridaki A., Bourtzis K., 2010. *Wolbachia*: more than just a bug in insects genitals // Curr. Opin. Microbiol. V. 13. № 1. P. 67–72.
- Serga S.V., Rozhok A.I., Protsenko O.V., Kozeretska I.A., Mousseau T.A., 2010. *Spiroplasma* in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine // Dros. Inf. Serv. V. 93. P. 148–154.
- Solignac M., Vautrin D., Rousset F., 1994. Widespread occurrence of the proteobacteria *Wolbachia* and partial cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* // C. R. Acad. Sci. V. 317. P. 461–470.
- Starr D.J., Cline T.W., 2002. A host parasite interaction rescues *Drosophila* oogenesis defects // Nature. V. 418. № 6893. P. 76–79.
- Sun S., Cline T.W., 2009. Effects of *Wolbachia* infection and ovarian tumor mutations on sex-lethal germline functioning in *Drosophila* // Genetics. V. 181. № 4. P. 1291–1301.
- Teixeira L., Ferreira A., Ashburner M., 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster* // PLoS Biol. V. 6. № 12. e1000002. doi:10.1371/journal.pbio.1000002.
- Thomas-Orillard M., 1984. Modifications of mean ovariole number, fresh weight of adult females and developmental time in *Drosophila melanogaster* induced by *Drosophila C Virus* // Genetics. V. 107. № 4. P. 635–644.
- Unckless R.L., Jaenike J., 2011. Maintenance of a male-killing *Wolbachia* in *Drosophila innubila* by male-killing dependent and male-killing independent mechanisms // Evolution. V. 66. № 3. P. 678–689.
- Veneti Z., Clark M.E., Zabalou S. (eds.), 2003. Cytoplasmic incompatibility and sperm cyst infection in different *Drosophila-Wolbachia* associations // Genetics. V. 164. P. 545–552.
- Werren J. H., 1997. Biology of *Wolbachia* // Annu. Rev. Entomol. V. 42. P. 587–609.
- Wu M., Sun L.V., Vamathevan J. et al., 2004. Phylogenomics of the reproductive parasite *Wolbachia pipientis* wMel: a streamlined genome overrun by mobile genetic elements // PLoS. Biol. V. 2. № 3. P. e69. doi:10.1371/journal.pbio.0020069.
- Xi Z., Gavotte L., Xie Y., Dobson S.L., 2008. Genome-wide analysis of the interaction between the endosymbiotic bacterium *Wolbachia* and its *Drosophila* host // BMC Genomics. V. 9. № 1. doi:10.1186/1471-2164-9-1.
- Zilber-Rosenberg I., Rosenberg E., 2008. Role of microorganisms in the evolution of animals and plants: the hologenometheory of evolution // FEMS Microbiol. Rev. V. 32. P. 723–735.
- Zhou W., Rousset F., O'Neill S.L., 1998. Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences // Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. V. 265. P. 509–515.

The puzzle of *Wolbachia* spreading out through natural populations of *Drosophila melanogaster*

S. V. Serga, I. A. Kozeretskaya

*Taras Shevchenko National University of Kyiv
Department of General and Molecular Genetics
01601 the Ukraine, Kyiv, Vladimirska, 64
e-mail: luchiksveta05@gmail.com*

The endosymbiotic bacteria *Wolbachia* are widely spread in natural populations of arthropods all over the world. This phenomenon, according to the current views, may be due either to so called reproductive parasitism (modification of sexual reproduction) or to mutualistic interrelationships with the host organism, since the bacteria are transmitted transovarially. *Wolbachia* are extremely widespread in natural populations and laboratory lineages of *Drosophila melanogaster* though they do not cause any known modifications of this insect sexual reproduction that could influence the bacteria frequency in the populations. It is found out that *Wolbachia* effects on drosophila reproductive processes can only consist in low-level of cytoplasmic incompatibility within laboratory lineages; in natural drosophila populations even such an effect has not been detected. The attempts to explain the wide spread of *Wolbachia* among representatives of *D. melanogaster* through fitness increasing of infected individuals were not successful either. Data obtained thereupon are contradictive and the results are not versatile. Meanwhile, there are some incomplete data on the bacteria affecting drosophila sexual behavior, expression of certain genes, ferrum metabolism. It is shown that the bacteria enhance individual resistance to RNA-viruses that, under natural conditions, infect fruit flies rather frequently, but the mechanisms of the phenomenon remain uncertain as well as the commonness of the phenomenon itself. Thus, at the one hand, it can be stated that infection by *Wolbachia* leads to a rather complex effect on *D. melanogaster* while, at the other hand, the reasons behind the wide spread of *Wolbachia* in natural populations of *D. melanogaster* still remain unclear.