

УДК 575:597.773.4:576.895.77

ЦИТОТИПЫ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ *DROSOPHILA MELANOGASTER* ФОНДА ЛАБОРАТОРИИ ГЕНЕТИКИ ПОПУЛЯЦИЙ ИНСТИТУТА ЦИТОЛОГИИ И ГЕНЕТИКИ СО РАН: ГЕНОТИПЫ ЭНДОСИМБИОНТА *WOLBACHIA* И МИТОТИПЫ ВИДА-ХОЗЯИНА

© 2013 г. Ю.Ю. Илинский^{1,2}, Р.А. Быков¹, И.К. Захаров^{1,2}

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия;

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск, Россия, e-mail: paulee@bionet.nsc.ru

Поступила в редакцию 3 июня 2013 г. Принята к публикации 15 августа 2013 г.

Матерински наследуемая эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена в природных популяциях *Drosophila melanogaster*. При этом следует отметить, что сведений о присутствии бактерии в лабораторных мутантных линиях в современной литературе недостаточно. В данном исследовании демонстрируется широкая распространенность эндосимбионта *Wolbachia* среди 353 мутантных линий фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН. Отмечено, что эндосимбионт поддерживается в течение длительного времени культивирования линий, и в двух случаях, вероятно, произошла утрата *Wolbachia*. Генотипическое разнообразие *Wolbachia* представлено тремя генотипами: wMel, wMelCS, wMelCS2. Поскольку известно, что *Wolbachia* строго сонаследуется с митохондриями, выявление митотипического разнообразия в совокупности с данными по инфицированности позволяет установить цитотипическое разнообразие линий. В линиях фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН выявлено 4 ранее описанных для природных популяций *D. melanogaster* цитотипа: M-MEL, M-w⁻, S-CS, S-w⁻. Паттерны частот цитотипов и частот генотипов значительно отличаются от таковых в природе, что объясняется схемой создания и историей ведения каждой линии.

Ключевые слова: генетические коллекции, *Drosophila melanogaster*, *Wolbachia*, митотип, генотип, цитотип, коэволюция.

ВВЕДЕНИЕ

Генетические коллекции живых модельных объектов, в том числе *Drosophila melanogaster*, создаются и расширяются в результате включения в них мутантных и нормальных линий из мировых фондов и природных популяций, пополняются за счет оригинальных линий, вновь полученных в ходе исследований в лабораториях (Lindsley, Grell, 1968; Lindsley, Zimm, 1985, 1990). После сокращения числа линий коллекции European Drosophila Stock Center University of Umea (Швеция) самым большим в мире фондом линий дрозофил остается Bloomington Drosophila Stock Center at Indiana Uni-

versity, США (<http://flystocks.bio.indiana.edu/>). Многие исследовательские группы и кафедры университетов содержат и собственные коллекции живых организмов. Фонд дрозофил лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН имеет полувековую историю и относится к разряду наиболее крупных в России.

Лабораторные линии *Drosophila melanogaster* могут быть использованы для различных научно-исследовательских и образовательных целей.

1. Картирование и идентификация вновь обнаруженных мутаций.

2. Популяционно-генетические исследования, в том числе и с применением молекулярно-генетических методов.

3. Стандартные линии используются для проведения биохимических, генетических, этологических и физиологических экспериментов, в частности как тестерные линии при проведении однотипных исследований для получения количественных характеристик мутабельности, плодовитости, характеристик жизнеспособности.

Мы создаем, что это далеко не полный перечень.

Все это подразумевает расширение знаний о линиях и постоянное изучение их свойств. Резкое повышение интереса к исследованию линий фонда происходит: 1) при вовлечении в обиход принципиально новых методов исследования генома; 2) при выявлении новых генетических феноменов, как это случилось при обнаружении мобильных генетических элементов (Mobile DNA, 1989; Finnegan, 1990) и цитобионтов (Wolstenholme, 1965; Glover *et al.*, 1990; O’Niell, Karr, 1990; O’Niell *et al.*, 1992).

Бактерия рода *Wolbachia* – это наследуемый строго по материнской линии внутриклеточный симбионт членистоногих и нематод, и ее можно рассматривать как факультативный компонент генома эукариот. Биология рода *Wolbachia* крайне разнообразна и не позволяет охарактеризовать его однозначно как паразита, комменсала или мутуалиста. Это связано с очень большим генетическим разнообразием бактерий и исключительным количеством симбиотических ассоциаций с самыми разными видами-хозяевами.

Распространенность *Wolbachia* среди членистоногих оценивается на уровне 40 % видов всего биоразнообразия (Hilgenboecker *et al.*, 2008; Zug, Hammerstein, 2012). Такое широкое распространение связано с горизонтальным переносом *Wolbachia* между видами-хозяевами (Cordaux *et al.*, 2001; Sintupachee *et al.*, 2006; Baldo *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2012; Guidolin, Consoli, 2013). Однако остается загадкой, что может служить вектором подобного переноса. Значительный интерес в исследовании *Wolbachia* представляют вызываемые бактерией у видов-хозяев репродуктивные аномалии: андроксизм, феминизация, партеногенез и цитоплазматическая несовместимость (ЦН). Эти аномалии способствуют распространению и поддержанию инфекции в популяции хозяина (Mercot, Charlat,

2004). Для *Drosophila melanogaster* характерно проявление ЦН, которая заключается в гибели потомства от скрещивания неинфицированной самки с инфицированным самцом (O’Neill *et al.*, 1992; Bressac, Rousset, 1993; Werren, 1997; Zabalou *et al.*, 2008; Илинский, Захаров, 2009; Zheng *et al.*, 2011).

Известны факты мутуалистического взаимодействия хозяин–вольбахия. Для филярийных нематод *Wolbachia* является облигатным цитобионтом, необходимым для репродукции червя (Bandi *et al.*, 1998; Taylor *et al.*, 2000a, b). Для некоторых видов паразитических ос обнаружено, что *Wolbachia* необходима для нормального протекания оогенеза (*Asobara tabida*), а также то, что она обеспечивает более высокую плодовитость наряду с индукцией партеногенеза (*Eretmocerus mundus*) (De Barro, Hart, 2001; Kremer *et al.*, 2009). У комаров *Aedes albopictus* одновременно с индукцией ЦН бактерия увеличивает плодовитость инфицированных самок (Dobson *et al.*, 2002). Для *Drosophila simulans*, *D. melanogaster*, а также комара *Anopheles stephensi* описано антивирусное действие *Wolbachia* (Hedges *et al.*, 2008; Teixeira *et al.*, 2008; Osborne *et al.*, 2009; Bian *et al.*, 2013).

Установлено, что *Wolbachia* у *D. melanogaster* распространена по всему ареалу существования вида. Частота встречаемости варьирует от единичных инфицированных особей до тотальной зараженности эндосимбионтом, а в среднем доля инфицированных особей составляет 50 % (Solignac *et al.*, 1994; Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011; Richardson *et al.*, 2012; Plinsky, 2013). Общеизвестно, что все наблюдаемое генетическое разнообразие *Wolbachia* произошло монофилетично от потомков одной инфицированной самки из предковой популяции *D. melanogaster*. По молекулярным данным описан только один штамм *Wolbachia* – wMel, который обнаруживает низкое разнообразие по нуклеотидному полиморфизму ДНК (Riegler *et al.*, 2005, 2012; Richardson *et al.*, 2012). Однако значительный полиморфизм выявлен в отношении перестроек генома, инсерций мобильных элементов и вариативности повторов минисателлитных локусов (Riegler *et al.*, 2005, 2012). Описываемые на основании этого полиморфизма изоляты именуются как генотипы

Wolbachia штамма wMel, и всего известно 6 генотипов: wMel, wMel2, wMel3, wMel4, wMelCS и wMelCS2. Повсеместно в популяциях *D. melanogaster* мира обнаружены генотипы wMel и wMelCS (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров, 2007а, б; Nunes *et al.*, 2008; Ilinsky, 2013), при этом среди инфицированных особей более чем в 90 % случаев встречается wMel. Генотип wMel2 обнаружен в популяциях Китая, Японии, Индии и странах Юго-Восточной Азии (Riegler *et al.*, 2005; Nunes *et al.*, 2008). Генотип wMel4 описан из сборов популяций *D. melanogaster* полуострова Синай (Ilinsky, 2013). Генотип wMelCS2 распространен в популяциях Восточной Европы, Кавказа, Средней Азии и Алтая (Riegler *et al.*, 2005; Илинский, Захаров 2007а, б; Ilinsky, 2013). Генотип wMel3 был обнаружен только в одной лабораторной линии *D. melanogaster* и, по-видимому, в природе не встречается (Riegler *et al.*, 2005).

По биологическому влиянию на хозяина выделяется штамм wMelPop, который приводит к ранней гибели *D. melanogaster* вследствие активной пролиферации бактерии в клетках соматических тканей и их повреждения (Min, Benzer, 1997; Reynolds *et al.*, 2003; Струнов и др., 2013). По протоколу генотипирования этот штамм определяется как wMelCS-генотип (Ilinsky, 2013), однако по фенотипическому действию только изолят wMelPop оказывает влияние на продолжительность жизни хозяина.

Если данные по инфицированности природных популяций *D. melanogaster* достаточно обширны (Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Solignac *et al.*, 1994; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013), то сведения об инфицированности мутантных линий скудны и, по сути, сводятся к одной работе (Clark *et al.*, 2005), в которой приведены данные по инфицированности *Wolbachia* мутантных линий и линий дикого типа из коллекции фонда Bloomington Center, США. Авторы отмечали, что паттерн инфицированности заметно отличался для разных групп линий. Каких-либо сведений по генетическому разнообразию бактерии или митотипическому разнообразию *D. melanogaster* в этой работе не приводилось.

Целью нашего исследования было заполнить пробел в данных по инфицированности

мутантных линий, используемых в молекулярных и генетических экспериментах, и сделать доступным широкий набор мутантных линий фонда *D. melanogaster* лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН для исследований взаимодействия вольбахия–хозяин. Для этого мы рассматриваем материнскую наследственность *D. melanogaster*, под которой подразумевается облигатный компонент генома – митохондриальная ДНК – и факультативный – эндосимбионт *Wolbachia*. Описание материнской наследственности конкретной линии обозначается термином «цитотип», который включает митотип и статус инфицированности. В качестве фактического материала мы представляем к рассмотрению результаты скрининга (i) инфицированности 353 мутантных линий фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН, приводим данные по (ii) генотипическому разнообразию *Wolbachia* и (iii) митотипическому разнообразию *D. melanogaster*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Линии фонда

Для исследования было использовано 353 мутантные линии *Drosophila melanogaster* из фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН (табл. 1). Линии входят в состав 8 групп либо на основании локализации мутаций, либо объединяются по определенным мутациям: «хромосома 1» (118 линий), «yellow» (22), «хромосома 2» (77), «lethal giant larvae» (17), «хромосома 3» (82), «хромосома 4» (6), «транслокации» (8), «мультихромосомная» (23). Указанные в табл. 1 номера линий соответствуют картотеке фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН.

Выделение ДНК, установление статуса инфицированности линий, генетического разнообразия *Wolbachia* и митотипического разнообразия *D. melanogaster*

Выделение ДНК проводилось по стандартной методике с модификациями (Marmur, 1961). Четыре самки каждой линии *D. melanogaster* гомогенизировали и инкубировали в объеме 200

Таблица 1

Генотип и цитотип мутантных линий *Drosophila melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск)

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
Группа «хромосома 1»			
1-4	C(1)DX, y w f / B	S/w ⁻	
1-5	Basc / Bx	S/wMelCS2	ранее 1976 г.
1-9	C(1)DX, y w f / car	S/w ⁻	Р.Л. Берг, 1968
1-10	Basc / ct oc v f	S/wMelCS2	
1-11	C(1)DX, y w f / ct ⁿ	S/w ⁻	М. Green, 1975
1-12	C(1)DX, y w f / B ct	S/w ⁻	1972
1-12a	C(1)DX, y w f / ct oc	S/w ⁻	И.Д. Ерохина, 1985
1-13	ct ⁶¹ z ⁵⁰¹³⁰	S/w ⁻	1975
1-14	C(1)DX, y w f / ct sn ³	S/w ⁻	1975
1-14a	C(1)DX, y w f / ct ¹²⁹ sn ³	S/w ⁻	†
1-16	C(1)DX, y w f / ct v f	S/w ⁻	1978
1-20	dy ⁹⁰³⁸⁸	S/w ⁻	исп. линия 1-24
1-21	Basc/dx ⁿ f	S/w ⁻	1973
1-24	C(1)DX, y w f / dy ^{73c16} wy ^{73l}	S/w ⁻	М. Green, 1977
1-26	C(1)DX, y w f / ec dx	S/w ⁻	1973
1-29a	C(1)DX, y w f / f	S/w ⁻	1982
1-30	f ^{K76}	S/w ⁻	Краснодар, 1976
1-30b	f ^{85A A}	S/w ⁻	†
1-32	C(1)DX, y w f / f ^{U88319}	S/w ⁻	
1-33	C(1)DX, y w f / f w	S/w ⁻	
1-35	C(1)DX, y w f / g f	S/w ⁻	
1-36	C(1)DX, y w f / g wup ^{B70}	S/w ⁻	
1-37	FM6/In(1) Hw ^{49c}	S/w ⁻	И.Ф. Жимулев
1-38	kf ² v	S/w ⁻	Т.К. Johnson
1-38a	kf ^{MR1} v	S/w ⁻	Т.И. Герасимова
1-40	C(1)DX, y w f / lz ⁵⁰¹³⁰	S/w ⁻	
1-45	N ³⁵	S/wMelCS2	отбор ♀♀ Notch
1-46	N ⁵⁹	S/wMelCS2	отбор ♀♀ Notch
1-47	C(1)DX, y w f / m ^{U89404}	S/w ⁻	
1-48	FM6/N ⁹²⁸⁷⁸	S/w ⁻	пос. Янтарный, 1992
1-50	N ⁹⁰⁷¹⁹	M/w ⁻	
1-52a	C(1)DX, y w f / m ^{SG1976}	S/w ⁻	
1-53	C(1)DX, y w f / m ct ⁶ g	S/w ⁻	
1-54	FM6 / N ⁸⁸³¹⁹	S/w ⁻	
1-55	FM6 / N ⁹⁰³¹⁰	M/wMel	Запорожье, 1990
1-56	C(1)DX, y w f / ras ^{A77}	S/w ⁻	
1-57	ras v m ^{73l27.1}	S/w ⁻	
1-58	ru ^{x2}	S/wMelCS2	исп. линия 1-90
1-59a	Basc / r ^{K1979}	S/wMelCS2	†
1-60	Basc / r ^{U1986}	S/wMelCS2	
1-61	C(1)DX, y w f / sc ⁷ v f	S/w ⁻	
1-62	C(1)DX, y w f / sc ⁹ Bx f t w ^a	S/w ⁻	
1-63	sc ^{B1993}	S/wMelCS2	исп. линия 1-90

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
1-64	Basc / sc ec cv v	S/wMelCS2	
1-66a	FM6 / sc ec cv ct ⁶ v g	S/w ⁻	
1-67	C(1)DX, y w f / sn ³ oc ¹²⁹	S/w ⁻	
1-68	svr	S/wMelCS2	
1-70	Basc / sn ⁶³ fw	S/w ⁻	утрата <i>Wolbachia</i> ?
1-72	sn ³	S/wMelCS2	получена из линии 1-94
1-73	Basc / sn ^{SG49-5}	S/wMelCS2	
1-74	C(1)DX, y w f / sn ⁸⁵⁵ r ⁸⁵⁵	S/w ⁻	
1-75	C(1)DX, y w f / sn ⁸⁸⁸ m ⁸⁸⁸	S/w ⁻	
1-76	v	S/w ⁻	Крым, 1961
1-77	C(1)DX, y w f / v ⁹⁰⁰⁴²	S/w ⁻	
1-78	v ⁹⁰⁰⁸⁸	M/w ⁻	†, Умань, 1990
1-79	C(1)DX, y w f / v ⁹⁰²⁵⁵	S/w ⁻	
1-80	w	S/w ⁻	
1-80a	C(1)DX, y w f / w ^{T1980}	S/w ⁻	
1-80b	C(1)DX, y w f / w ^{r4075}	S/w ⁻	
1-81	C(1)DX, y w f / w ^a	S/w ⁻	
1-82	v ⁹⁰⁷¹⁹	M/w ⁻	Магарац, 1990
1-83	w ⁱ	M/w ⁻	от линии 1-50
1-84	w ^{ch}	S/w ⁻	
1-90	Basc / Basc	S/wMelCS2	линия Muller-5
1-90b	C(1)DX, y w f / sc v f B	S/w ⁻	
1-94	w sn ³	S/wMelCS2	исп. линия 1-90
1-97	C(1)DX, y w f / w ^{co} sn ²	S/w ⁻	
1-99	w mus(1) 104 ^{D1}	S/w ⁻	А.С. Ким (МГУ)
1-102	C(1)DX, y f / y	S/wMelCS2	
1-108	C(1)DX, y w f / In(1) dl-49, y	S/w ⁻	
1-110	C(1)DX, y w f / y B	S/w ⁻	†
1-111	Basc / y ct v f	S/wMelCS2	Алма-Ата, 1977
1-112	C(1)DX, y w f / y ct v f	S/w ⁻	
1-113	y ^{A77} ras ^{A77}	S/w ⁻	
1-116	y ^{2sc1} w ^a w ^{ch} N ^{fa-1}	M/w ⁻	Umea Dros. Stock Center, 1996
1-117	y sn ³	S/wMelCS2	†, создана на основе линий 1-102 и 1-72
1-118	C(1)DX, y w f / y ² Su-s ^{5le15} ras v f	S/w ⁻	
1-119	y v	S/wMelCS2	
1-121	y w	S/w ⁻	ЛГУ, 1976
1-121a	y w sn	S/w ⁻	И.Ф. Жимулев
1-122	y cv v f car	S/wMelCS2	исп. линия 1-90
1-123	Basc / y ² sn ³ lz ⁵⁰¹ m	S/w ⁻	утрата <i>Wolbachia</i>
1-124a	Basc / y cv ¹⁴⁰³	S/wMelCS2	
1-125	FM4 / y ^{2MR} kf ^{MR} ; Basc / y ^{2MR} kf ^{MR}	M/w ⁻	Т.И. Герасимова, 1982
1-126	C(1)DX, y w f / y ^{2MR} kf ^{MR}	S/w ⁻	
1-128	y ^{596z} / TY;2 MR102, bw ^v	S/wMEICS	М. Green, 1986
1-130	FM6 / Df(v) ^{L15}	S/w ⁻	И.Ф. Жимулев, 1978
1-130a	C(1)DX, y w f / FM6	S/w ⁻	

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
1-133	y ² cho ²	S/wMelCS	Woodruff, 1981
1-138	Basc / y pn cv v f B	S/wMelCS2	И.Ф. Жимулев
1-139	FM6 / M18	M/w ⁻	М. Монастириоти
1-141	FM6 / Df(1) sc ^{v1} , f ^{36a}	M/w ⁻	
1-142	C(1)DX, y f / In(1) y ^{3PL} sc ^{S1R} In(1)S, y ⁻ ac ⁻ sc ⁻ ; In(2L)Cy, Cy; Dp(1;2)sc ¹⁹	M/wMel	Bowling Green Stock Collec- tion, No. 7136, (USA), 1992
1-143	C(1)DX, y w f / Df(1) Pgd-kz	S/w ⁻	
1-145	FM6/Df(1)ct ¹⁴ f; Df(1)ct ¹⁴ f / ct ⁺ Y	M/wMel	T.K. Johnson, Kansas State University, 1980
1-147	Df(1) ct ^{4B1} oc ptg / In dl49 y sc ⁴ sc ^{81z} Sv B Dp(1;3) sn ^{13a}	S/wMelCS2	†
1-147a	FM4 / Df(1) ct ^{4B1} oc ptg	S/wMelCS2	контаминация Basc
1-148	FM4 / Df(1) ct ^{268 42} y	M/w ⁻	Инст мол. биол., 1980
1-149	FM6 / N ⁹²²⁷⁴	S/w ⁻	отбор ♀♀ Notch
1-152	FM6 / N ⁹²³⁷⁴	M/w ⁻	отбор ♀♀ Notch
1-153	FM6 / In(1) ct ^{HA46} × In(1) ct ^{HA46} / ct ⁺ Y	M/wMel	Инст. мол. биол., 1982
1-155	C(1)DX, y w f / dy ^{88 A-A 148}	S/w ⁻	
1-156	C(1)DX, y w f / y ⁷⁵⁹ dy ⁷⁵⁹	S/w ⁻	
1-157	C(1)DX, y w f / r ⁸⁹³⁰⁰	S/w ⁻	†
1-158	C(1)DX, y f / y ²⁻⁸⁸³¹⁹ f ⁸⁸³¹⁹	S/w ⁻	
1-162	C(1)DX, y f / Basc	S/w ⁻	
1-163	C(1)DX, y w f / Basc	S/w ⁻	
1-166	f ^{A-35}	S/w ⁻	Аскат, 2000 (Алтай)
1-167	Basc / r	S/wMelCS2	
1-168	Basc / r ⁺	S/wMelCS2	от линии 1-167
1-169	pn	M/wMel	Ижевск, 2000
1-170	w ^c	M/wMel	Аскат, 2000 (Алтай)
1-171	w	S/w ⁻	Аскат, 2000 (Алтай)
1-173	C(1)DX(exp) / Y	M/w ⁻	†, из линии w60
1-174	Basc / dy	S/wMelCS2	
1-175	C(1)DX, y w f / f	S/w ⁻	
1-176	C(1)DX(exp) / w	M/w ⁻	из линии 1-173
Группа «хромосома 2»			
2-2	al	S/w ⁻	1976
2-5	al ² Cy pr Bl cn ² L ⁴ bw sp ² / In(2L)NS px sp	S/w ⁻	
2-7	al dp b cn bw	S/w ⁻	Инст. мед. генет., 1978
2-9a	b ^{vm 92}	M/w ⁻	Умань, 1986
2-10	b ⁷⁴	S/wMelCS2	М.Д. Голубовский, 1974
2-11	b cn c	S/w ⁻	МГУ, 1976
2-11a	b cn	S/w ⁻	1979
2-12	b cn bw	S/wMelCS2	Инст. мед. генет., 1978
2-13	b lt l(2) cn mi sp / In(2LR) bw ^{vDe1} , b bw ^{vDe1}	M/w ⁻	Umea Dros. Stock Center, 1995 (№ 39700)
2-19	Bl L ² / SM1	S/wMelCS2	1976
2-20	bw	S/wMelCS2	1976
2-21	bw ⁶⁵	S/wMelCS2	1976

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип **	Примечание ***
2-22	mak / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	Ю.Н. Иванов, М.Д. Голубовский, 1967
2-23	L ² / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	1976
2-24	lz ⁺ Ad ^{15v} / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	М.Д. Голубовский, 1976
2-24a	d ^{15v} / SM5	S/wMelCS2	1976
2-25	c ⁶⁵	S/w ⁻	1976
2-26	MRF / Cy L ⁴	S/wMelCS2	Jannopoulos, 1989; Л.З. Кайданов, 1996
2-27	cn ^{35k}	S/wMelCS2	1976
2-27b	cn ³⁰²⁶	M/w ⁻	
2-27г	cn ³⁰⁵⁸	M/wMel	Запорожье, 1986
2-27e	cn	M/wMel	Нальчик, 1987
2-29	cn ⁸⁸	M/w ⁻	Нальчик, 1988
2-30	cn ⁸⁹	M/w ⁻	Нальчик, 1988
2-31	d / SM5	M/wMel	1976
2-32	Ds ^{38k} / In(2L) Cy dp ² b pr	S/w ⁻	1977
2-35	fes mr cn sp / net dp ^{ixj} Cy b pr Bl lt ³ cn ² L ⁴ sp ²	M/w ⁻	†
2-37	l(2)gl a px or / SM5	M/wMel	С.В. Bridges, 1933
2-38	l(2)gl a px or / In(2LR) Cy cn	S/w ⁻	1988
2-39	l(2)me / SM1	M/w ⁻	США, 1973
2-40	ltd bw	S/w ⁻	Инст. биол. разв. 1979
2-40a	L ⁸¹	S/w ⁻	Ю.Н. Иванов, 1981
2-41	MR U12-2 / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	Ю.Н. Иванов, 1991
2-42	M(2)S7 / SM5	M/wMel	1976
2-44a	MR-h12 / Cy	S/wMelCS2	М. Green, 1978
2-45	net	S/wMelCS2	О. Ohio, 1973
2-45b	net ⁸⁷	S/wMelCS2	Брянск, 1987
2-47	net al / al Cy sp	M/w ⁻	1976
2-49	MR U12-2 / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	1995
2-50	mi / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
2-51	mi / In(2LR) Cy cn	S/w ⁻	mi ⁺ , исп. линия 1 из мультихр.
2-54	Pet / Cy	S/wMelCS2	1976
2-55	MR T ⁻⁰⁰⁷ / Cy	S/w ⁻	
2-57	sca l(2)C / SM5	M/wMel	
2-58	shr bw ^{2b} abb sp / SM5	S/wMelCS	Umea Drosophila Stock Center, No. 51700
2-59	S Sp Bl / SM1	M/w ⁻	К. Соколова, 1973
2-63	Su 81c / Cy	S/wMelCS2	Л.З. Кайданов
2-67	vg	S/w ⁻	1976
2-75	Df(2)net ⁶² / SM1	S/w ⁻	М.Д. Голубовский, 1974
2-75a	Df(2)net ⁶² / net dp ^{ixi} Cy b pr Bl lt ³ cn ² L ⁴ sp ²	S/w ⁻	Л.А. Кулаков, 1975
2-75b	Df(net l(2)gl) / Cy	M/wMel	†
2-75k	Df(net l(2)gl) / Cy	S/w ⁻	1983
2-76	CyO / Df(2R) M60E	S/w ⁻	Bloomington Dros. Stock Center
2-77	CyO / In(2LR) bw ^{v32g}	S/w ⁻	А. Горчаков, 2000
2-80	cr-u / In(2L+2R) Cy(w ^e)	M/w ⁻	1976
2-86	b ^{88L460}	S/wMelCS2	Ленинакан, 1988

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
2-88	cn ⁹⁰⁰⁶³	M/w ⁻	Умань, 1990
2-89	cn ⁹⁰³⁹¹	S/w ⁻	Запорожье, 1990
2-90	cn ⁹⁰³⁹⁹	M/w ⁻	Запорожье, 1990
2-91	cn ⁹⁰⁴⁵⁰	M/wMel	Запорожье, 1990
2-94	cn ⁹⁰⁷⁷³	S/w ⁻	†
2-95	cn ⁹¹⁰⁶⁶	S/wMelCS	†, Умань, 1991
2-96	cn ⁹¹⁰⁵⁰	M/wMel	Умань, 1991
2-98	ap ^{56f} cn	M/wMel	Тель-Авив, Danny Segal, Н.Е. Грунтенко, 2000
2-99	b ^{K5}	M/wMel	Карамбай, 2000
2-100	ltd ^{K6}	M/wMel	Карамбай, 2000
2-101	ltd ^{K25}	M/wMel	Карамбай, 2000
2-102	stw ^{I3} / Cy	M/wMel	Ижевск, 2000
2-103	stw ^{I34}	S/w ⁻	
2-105	net ^{B27}	M/wMel	Белокуриха, 2000
2-106	bw ^{B7}	S/wMelCS2	Белокуриха, 2000
2-107	bw ^{B-11}	M/wMel	Белокуриха, 2000
2-108	bw ^{B15}	M/wMel	Белокуриха, 2000
2-109	bw ^{B22}	M/wMel	Белокуриха, 2000
2-110	b ^{Ch24}	M/w ⁻	Черкасы, 2001
2-111	b ^{Ch2}	S/w ⁻	Черкасы, 2001
2-114	wg ^{sp-1} Bl ¹ L ^{rm} Bc ¹ Pu ² / SM6#16	M/w ⁻	Bloomington Dros. Stock Center, №1219
Группа «хромосома 3»			
3-1	ale	S/wMelCS	И.К. Захаров, Умань, 1971
3-2	w(1); AntpC	S/wMelCS2	И.Ф. Жимулев
3-6	ca	S/w ⁻	1976
3-8	Cu	M/w ⁻	Ю.Н. Иванов, 1979
3-9	Df(3R)Ser, Ser p ^p e ^s / TM3	S/w ⁻	†
3-10	Dfd / TM3, y ⁺ ri p ^p , sep, bx ^{34e} e ^s Ser	M/w ⁻	1976
3-11	Dl ¹⁴ / In(3R)Cyd, Cyd	S/w ⁻	1976
3-13	D In(3LR) / Sb	S/w ⁻	†
3-14	Dr / Ser	M/w ⁻	1979
3-15	e	S/w ⁻	1976
3-16	flr ³ / TM3, Sb Ser	M/wMel	Т. Koana, 1997
3-17	e gl	S/w ⁻	†
3-18	flr ³ / In(3LR) TM3, ri p ^p sep L(3)89 Aa bx ^{34e} e Bd ^S	S/w ⁻	U. Grat, 1994
3-19	flr ³ / TM3, Ser	S/w ⁻	Univ. of Zurich, 1989
3-20	gl	S/w ⁻	1976
3-21	gl ^G	S/w ⁻	1978
3-23	h ri ca	M/wMel	†
3-24	h st rs ³ ss ^a / In(3LR) Ubx ¹³⁰ , Ubx ¹³⁰ e ^s	M/w ⁻	1976
3-26	h th st cp in ri p ^p ss ^a bx ³ sr e / TM1 Me' ri sbd ^e	M/wMel	1976
3-27	Hn ^{[r][2]}	M/w ⁻	†
3-31	Moz ¹ / Ser	M/w ⁻	
3-32	Ly Sb / LVM	M/w ⁻	1976
3-33	Mc / Xa	M/wMel	†

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
3-34	ORR / ORR; flr ³ / In(3LR)TM3, ri p ^p sep l(3) 89 Aa bx ^{34e} e Bd ^S	M/w ⁻	U. Grat, 1994
3-35	mwh	S/w ⁻	†
3-36	mwh	S/w ⁻	U. Grat, 1994
3-37	Pr Dr / TM3, y ⁺ , ae ⁺ , ri, p ^p , sep, bx ^{34e} , e ^S	M/w ⁻	
3-38	Pr Dr / TM3, y ⁺ , ae ⁺ , ri, p ^p , sep, bx ^{34e} , e ^S	M/w ⁻	
3-42	rn ¹³¹⁴ roe ¹³¹⁴ / D	S/w ⁻	Горно-Алтайск, 1992
3-43	ri	M/wMel	Л.А. Васильева
3-44	rn ¹⁵⁰³ roe ¹⁵⁰³ / D	S/w ⁻	Горно-Алтайск, 1992
3-45	rs	M/wMel	G. Reuter, 1990
3-46	ru h th st cu sr e ^S ca (ru cu ca) / TM6 B, Antp ^{Hu} e ¹ Tb ¹ ca ¹	M/w ⁻	1976
3-47	st ^{V89}	M/w ⁻	Витебск, 1989
3-48	st ^{U85}	S/w ⁻	Умань, 1985
3-49	st ^{U65}	S/w ⁻	Умань, 1965
3-50	st e	S/w ⁻	1976
3-51	st c3G ca / TM1, Me' ri sbd(sp ²)	M/w ⁻	1976
3-53	se	S/w ⁻	1976
3-54	se ^{U65}	S/w ⁻	Умань, 1965
3-55	se ^{B71}	S/w ⁻	Бюракан, 1971
3-56	se ^{G83}	S/w ⁻	Геленджик, 1983
3-57	se ^{V89}	M/w ⁻	Витебск, 1989
3-58	ss bxd k e ⁵ / Xa	S/w ⁻	1976
3-59	Sb / TM3, y ⁺ ri p ^p sep bx ^{34e} e ^S Ser	M/w ⁻	М.Д. Голубовский, 1973
3-60	Sb Ubx / Xa	M/wMel	
3-62	ve vn ri st	S/wMelCS	Л.А. Васильева
3-63	TM1, Me / TM6, Ubx	S/w ⁻	Т. Koana, 1997
3-64	vn st	S/wMelCS	Garsia Bellido, 1988
3-65	se ^{Z98}	S/w ⁻	Л.П. Захаренко, 1998
3-70	se ^{N89}	M/wMel	Нальчик, 1989
3-71	v; red Su(Hw ²) sbd ²	S/w ⁻	М.А. Волошина, 1992
3-74	Su(Hw ²) sbd / TM1, Me ri sbd ²	S/wMelCS2	И.Ф. Жимулев, 1984
3-75	gl ⁸⁹¹⁹⁰	M/w ⁻	Умань, 1989
3-78	st ⁹⁰¹¹⁶	M/w ⁻	Умань, 1990
3-80	st ⁹⁰²⁴⁶	M/w ⁻	Умань, 1990
3-81	st ⁹⁰⁰⁹⁰	M/wMel	Умань, 1990
3-82	st ⁹⁰²⁵⁰	M/w ⁻	Умань, 1990
3-84	st ⁹⁰⁰⁹⁰	S/w ⁻	Умань, 1990
3-86	st ⁹⁰²⁴⁷	M/wMel	Умань, 1990
3-89	ry Dr / TM3, Sb Ser kni p ^p sep l(3)89 Aa Ubx ^{bx-34l} e ¹	M/wMel	
3-90	ru h th st cu	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
3-91	th st cu	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
3-92	h th st cu	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
3-93	ru h th st cu sr Pr e ca / TM3, Sb ¹ st ²⁴ pp sep ¹ l(3)89 Aa ¹ Ubx ^{bx-34l} e ¹	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
3-94	Gl Sb Hu / In(3R) Payne	S/w ⁻	Yu. Schwartz, 2000
3-95	bx ^{N2000}	M/wMel	Нальчик, 2000

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
3-95d	bx	<i>S/w</i> ⁻	
3-96	e ^{B4}	<i>M/wMel</i>	Белокуриха, 2000
3-97	e ^{A15}	<i>M/wMel</i>	Асгат, 2000
3-98	e ^{B27}	<i>M/w</i> ⁻	Белокуриха, 2000
3-99	e ^{B28}	<i>M/wMel</i>	Белокуриха, 2000
3-100	det ^{I10}	<i>S/w</i> ⁻	Ижевск, 2000
3-101	det ^{I47}	<i>M/wMel</i>	Ижевск, 2000
3-103	sbd ^{I42}	<i>M/wMel</i>	Ижевск, 2000
3-105	se ^{Ch14}	<i>M/w</i> ⁻	Черкасы, 2001
3-106	se ^{P14}	<i>S/w</i> ⁻	Пычас, 2001
3-107	ru ¹ st ¹ spnE ¹ e ¹ ca ¹ / TM3, Sb ¹	<i>M/w</i> ⁻	В.А. Гвоздев, 2008
3-108	bx ^{IK-2005}	<i>S/w</i> ⁻	Иссык-Куль, 2005
3-109	bx ^{B-2006}	<i>M/wMel</i>	Бишкек, 2006
3-111	Df(3L)fz-M21 st ¹ / TM6	<i>S/w</i> ⁻	Bloomington Dros. Stock Center, № 3126
3-112	Trl ^{S2325}	<i>S/wMelCS</i>	Bloomington Dros. Stock Center, № 12088
Группа «хромосома 4»			
4-2	ci ey	<i>S/w</i> ⁻	1976
4-4	ey	<i>M/wMel</i>	1976
4-5	ey[D]	<i>S/wMelCS2</i>	†
4-7	sv ⁷¹	<i>S/wMelCS2</i>	Владивосток, 1987
4-8	sv ⁿ	<i>S/w</i> ⁻	1976
4-10	ci ^{A39}	<i>M/w</i> ⁻	Асгат, 2000
Транслокации			
604	Y y ⁺ / y, ri	<i>M/wMel</i>	
615	Y ^S XEN B f v y Y ^L y ⁺ & y v bb:= (no free Y)	<i>S/w</i> ⁻	†
618	Df(1) v ^L , y ² ec cv cb Df(1) v ^{L1} m f / FM6, y dm B	<i>S/wMelCS</i>	†
624	C(1)RM, y / 0; T(Y; 2) / Bal x самцы Y ^S X Y ^L , In(1)EN, y/0; T(Y; 2) / Bal	<i>M/w</i> ⁻	
630	C(1)DX, y f / w mus101 ^{A1}	<i>S/w</i> ⁻	
631	C(1)DX, y f / w mus101[D1] f / B[S] Y	<i>S/w</i> ⁻	
633	L(3)183 / In(3LR)TM3, y ⁺ ri p ^p sep Sb bx ^{34e} l ^S Ser	<i>M/w</i> ⁻	
634	mei9 ^{L1}	<i>M/wMel</i>	
Мультихромосомная группа			
1	Cy/L ² ; D / Sb	<i>S/w</i> ⁻	1976
2	w; D / Sb	<i>S/wMelCS</i>	Ю.Н. Иванов, 1998
3	sc ^{3B} ; bw; ale	<i>S/w</i> ⁻	Д.П. Фурман, 1982
8	v; e	<i>S/w</i> ⁻	1969
11	bw; e; ey	<i>S/w</i> ⁻	1969
13	br ³ , dx st ; su, dx ² ; ed	<i>S/wMelCS2</i>	1978
14	sn ^w , y; bw; st	<i>S/w</i> ⁻	1987
15	c; e	<i>S/wMelCS</i>	1969
16	w; se	<i>S/w</i> ⁻	1975
17	w; e	<i>S/wMelCS2</i>	1969
20	w; Cy / L	<i>S/wMelCS2</i>	И.Д. Ерохина, 1986
22	y; Dp(1;3), sc ^{J4} ; flr / TM1; Me, ri, sbd ²	<i>S/w</i> ⁻	Univ. of Zurich, 1985

Продолжение таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
36	y; vg	S/w ⁻	1979
39	w; TM3, Sb / TM6, Tb	S/wMelCS	М.А. Волошина, Индия, 2001
40	CyO; P (Δ 2-3) ⁺ ; ru' st' e ^s ca'	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
42	Dp Y[y ⁺]; CyO, P (Δ 2-3) / Gla	M/w ⁻	А. Горчаков, 2000
43	y ² ; Ly Sb mod ⁴⁴ / TM6, Tb Hu	M/w ⁻	Yu. Schwartz, 2000
44	y, hs-FLP1 22; FRT 10F / CyO	S/w ⁻	Lose Felis de Celis, 2000
45	Cy/Sp; Sb Δ2-3 / TM6	S/wMelCS	Н.Г. Камышев, 1995
50	y ¹ oc ^{R3.2} ; cn ¹ bw ¹ sp ¹ ; LysC ¹ MstProx ¹ GstD5 ¹ Rh6 ¹	M/wMel	†
51	w ¹ ; piwi ² / CyO	M/w ⁻	Л.П. Захаренко, 2008
53	y ac w ¹ ; aub ^{QC42} cn ¹ bw ¹ / CyO	M/w ⁻	В.А. Гвоздев, 2008
54	y w; Cy / If; TM3 Sb / TM6 Tb	S/w ⁻	С.А. Федорова, 2010
55	y w; Cy / If; TM3 Sb / (Δ 2-3) Ki	S/w ⁻	С.А. Федорова, 2010
Группа <i>lethal giant larvae</i>			
280****	l(2)gl a px or / SM5	M/w ⁻	С.В. Bridges, 1933
558	l(2)gl / Cy	M/w ⁻	Умань, 1967
309	l(2)gl / Cy	M/w ⁻	Умань, 1965
DV268	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/w ⁻	утрата <i>Wolbachia</i> ?
D149	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	?/w ⁻	†
D141	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
U245	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	M/w ⁻	
2-75*****	Df net ⁶² / Sm1	S/wMelCS2	
Б52	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	?/w ⁻	†
705	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
314	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
4067	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
4049	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
4031	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
E430	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
M119	l(2)gl / In(2LR) Cy cn	S/wMelCS2	
M26	Df(2) / Cy	M/wMel	М.Д. Голубовский, Mason, USA
Группа мутаций <i>yellow</i>			
717	y ²	M/wMel	Умань, 1983
719	y ²	M/wMel	Краснодар, 1979
743a	y ²	S/wMelCS2	эксперимент, Л.П. Захаренко, 1998
772	y ²	M/wMel	Умань, 1984
773	y ²	M/wMel	Умань, 1984
775	y ¹	S/wMelCS2	Умань, 1984
787	y ²	M/wMel	Умань, 1984
792	y ²	M/wMel	Умань, 1986
803	y ²	M/w ⁻	Умань, 1987
804	y ²	M/wMel	Умань, 1987
806	y ²	M/wMel	Умань, 1987
807	y ²	M/wMel	Умань, 1987
808	y ²	M/wMel	Умань, 1987
815	y ²	M/w ⁻	Умань, 1987

Окончание таблицы 1

Номер линии в фонде	Генотип линии <i>Drosophila melanogaster</i> *	Цитотип**	Примечание***
827	y ²	S/w ⁻	Умань, 1988
831	y ²	M/w ⁻	Умань, 1988
832	y ²	M/w ⁻	Умань, 1988
835	y ²	M/w ⁻	Умань, 1988
844	y ²	M/wMel	Умань, 1989
845	y ²	M/wMel	Умань, 1989
846	y ²	M/wMel	Умань, 1989
862	y ²	M/w ⁻	Умань, 1991

Примечание. * Описание генотипа дано согласно Lindsley, Grell (1968);

** митотип *D. melanogaster*/наличие (генотип) или отсутствие *Wolbachia*;

*** указывается год создания линии, происхождение линии, фамилия сотрудника, предоставившего линию;

**** линии 2-37 и 280 имеют одно происхождение – Pasadena, USA, Bridges, 1933, в лаборатории были разделены в конце 1960 гг.;

***** линия также включена в фонд «хромосома 2».

† линия утрачена.

мкл экстрагирующего буфера (10 mM Трис-HCl (pH 8,0), 25 mM ЭДТА, 0,5 % SDS, 0,1 M NaCl) при температуре 56 °C в течение двух часов. После преципитации ДНК растворяли в 50 мкл бидистиллированной воды. Статус инфицированности линии устанавливался с помощью метода ПЦР с праймерами, специфичными к гену *Wolbachia wsp* [81F 5'-TGGTCCAATAAGT GATGAAGAAAC-3', 691R 5'-AAAAATTAAC GCTACTCCA-3'] (Zhou *et al.*, 1998). Генотип *Wolbachia* определялся с использованием специфичных праймеров к полиморфным маркерам генома бактерии: двум локусам встройки инсерционной последовательности IS5 (IS5-WD0516/7: F 5'-CCATCAAGGTCTCTTTCA-3', R 5'-TGCAAGGAAACTAAACCAG-3'; IS5-WD1310: F 5'-AGGAGAACTGGTCTACGC-3', R 5'-TGTTGCTGAGCTTTGCT-3'), двум минисателлитным повторам VNTR (VNTR-141: F 5'-GGAGTATTATTGATATGCG-3', R 5'-GAC TAAAGGTTAGTTGCAT-3'; VNTR-105: F 5'-GCAATTGAAAATGTGGTGCC-3', R 5'-ATGA CACCTTACTTAACCGTC-3') и инверсии в локусе WD0394-WD0541 (F 5'-AAGTCTGT CACGGTTGAG-3', R 5'-GTAAAAGATGCAG TAAAGG-3') (Riegler *et al.*, 2005). Митотип *D. melanogaster* устанавливался с помощью метода ПЦР на однонуклеотидную замену 37C/T (2187 относительно GenBank NC001709), которая является диагностической для разделения

митохондриальной наследственности на две клады *M* и *S* (Ilinsky, 2013). Анализ проводился с использованием двух независимых ПЦР: первая – с праймерами COIR1 5'-CCAGTAAATAAT GGGTATCAGTG-3' и 2187-MEL 5'-GCGTTT GATTTTTTGGTGAT-3', вторая – с праймерами COIR1 5'-CCAGTAAATAATGGGTATCAGTG-3' и 2187-CS 5'-GCGTTTGGATTTTTTGGTGAC-3' (Nunes *et al.*, 2008; Ilinsky, 2013). В зависимости от того, какой нуклеотид (С или Т) находится в позиции 2187, ампликон будет нарабатываться только в одной из пробирок. Условия реакции: 25 циклов, первичная денатурация 94 °C – 2 мин, затем 15 с в каждом цикле, отжиг праймеров 55 °C – 30 с, элонгация 72 °C – 30 с.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы определили цитотипический статус для 353 мутантных линий фонда *D. melanogaster*, которые поддерживаются в лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН (табл. 1, 2). Основное количество линий (78 %) представлено в 3 группах: «хромосома 1» – 33 %, «хромосома 2» – 22 % и «хромосома 3» – 23 %. Группа «yellow» (6 %) исследовалась избирательно, в рассмотрение брали только те линии, которые не скрещивались с какими-либо другими линиями. На долю остальных 4 групп приходится 16 % от общего количества линий.

Таблица 2

Инфицированность бактерией *Wolbachia* линий *Drosophila melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск)

Группа мутантных линий	Исследовано линий	Число инфицированных линий			
		генотип <i>Wolbachia</i>			%
		wMel	wMelCS2	wMelCS	
Хромосома 1	117	6	26	2	29
Хромосома 2	77	18	21	2	53
Хромосома 3	82	18	2	4	29
Хромосома 4	6	1	2	0	50
Транслокации	8	2	0	1	38
Мультихромосомная	24	1	3	4	33
<i>yellow</i>	22	13	2	0	68
<i>lethal giant larva</i>	17*	1	9	0	59
Всего	353	60	65	13	39

Примечание. * Одна линия включена в состав группы «хромосома 2».

Для *D. melanogaster* описано 4 главных цитотипа: *M-MEL*, *M-w⁻*, *S-CS* и *S-w⁻*, которые отражают историю материнской родословной линии (Ilinsky, 2013). Обозначение *M/S* указывает на одну из двух клад мтДНК *D. melanogaster*, выявляемых по диагностической замене в позиции 37 (*M* : 37-Т и *S* : 37-С), а *MEL/CS/w⁻* указывает на статус инфицированности: к *MEL* группе относятся генотипы *wMel*, *wMel2*, *wMel3* и *wMel4*, а к *CS* – *wMelCS* и *wMelCS2*. Отсутствие *Wolbachia* в линии обозначается как *w⁻*.

1. Инфицированность фонда

Присутствие *Wolbachia* обнаружено у 138 (39 %) линий фонда. Доля инфицированных линий внутри групп оказалась следующей: «хромосома 1» – 29 %, «хромосома 2» – 53 % и «хромосома 3» – 29 %, среди оставшихся (малочисленных) групп этот показатель варьировал от 33 до 68 %.

1.1. Генетическое разнообразие *Wolbachia*

Среди мутантных линий *D. melanogaster* мы выявили 3 генотипа *Wolbachia*: *wMel* (60 линий), *wMelCS2* (65) и *wMelCS* (13). Распределение генотипов между группами оказалось неравномерным. В группе «хромосома 1» от-

мечено только 6 случаев присутствия наиболее распространенного в природных популяциях генотипа *Wolbachia* – *wMel*, тогда как более редкий в природе генотип бактерии *wMelCS2* обнаружен у 26 линий, и у двух линий выявлен *wMelCS*-генотип *Wolbachia*. В группе «хромосома 2» распределение по генотипам *wMel* и *wMelCS2* составляет 18 и 21 линия соответственно, а генотип *wMelCS* выявлен у двух линий. В группе «хромосома 3» две линии инфицированы *Wolbachia* генотипа *wMelCS2* и четыре – *wMelCS*, а генотип *wMel* обнаружен в 18 линиях. В «малочисленных» группах, «*lethal giant larva*», «хромосома 4» и «*yellow*», генотип *wMelCS* отсутствовал, тогда как в мультихромосомной группе выявлены все три генотипа. При более детальном рассмотрении групп выявляются закономерности, которые мы рассматриваем далее в рамках обсуждения распределения генотипов в группах.

1.1.1. Группа «хромосома 1»

В этой группе преобладают неинфицированные линии и линии, инфицированные *Wolbachia* генотипа *wMelCS2*, что объясняется схемой создания многих линий на основе использования самок двух линий-доноров хромосом при выделении анализируемой X-хромосомы.

Соответственно все потомки от подобного скрещивания обладают цитотипом материнского родителя.

Отсутствие *Wolbachia* для 41 из 83 линий в этой группе объясняется использованием в качестве материнского родителя тестерной линии 1-163, содержащей генетическую конструкцию «сцепленные X-хромосомы» – *C(1)DX*, маркированную тремя рецессивными мутациями: *white*, *yellow* и *forked*. Такая конструкция используется для поддержания определенной X-хромосомы в гемизиготном состоянии у самцов (самцы XY, самки XXy). Большинство таких линий создано в лаборатории генетики популяций при скрещивании самца, несущего исследуемую X-хромосому, с самкой 1-163 *C(1)DX, y w f/Y*, которая не инфицирована, и все ее потомки имеют цитотип *S-w⁻*.

В фонде содержатся *C(1)DX*-линии, не связанные родством с линией 1-163. Например, линия 1-142, *C(1)DX, y w/Y*, инфицированная *Wolbachia* генотипа wMel, получена из Bowling Green Stock Collection, США. Свободная от *Wolbachia* линия 1-173 *C(1)DX/Y* была создана в эксперименте при радиационном облучении неинфицированной линии дикого типа w60. Отметим, что эта линия часто использовалась в экспериментальной работе (Вайсман и др., 2009, 2013), поскольку, согласно картотеке фонда, именовалась как «Canton-S». Однако проверка материнской наследственности выявила несоответствие цитотипа линии w60 и Canton-S. Истинная линия Canton-S должна обладать цитотипом *S-CS* (генотип *Wolbachia* wMelCS). Не исключено, что отводки этой линии могут обладать цитотипом *S-w⁻*, т. е. быть незараженными, вследствие утраты *Wolbachia*. В случае линии w60 цитотип оказался *M-w⁻*, что определенно указывает на то, что материнский родитель линии не принадлежал линии Canton-S.

Среди 34 инфицированных линий в группе «хромосома 1» для 26 линий был установлен wMelCS2-генотип *Wolbachia*. Это объясняется использованием при выделении этих линий самок маркерной линии с цитотипом *S-CS*, а именно 1-90 Basc / Basc. Для некоторых линий, инфицированных бактерией генотипа wMelCS2, но не имеющих Basc-X-хромосомы, удалось установить факт использования линии 1-90 в

результате уточнения их гибридологической истории по рабочим журналам.

Статус остальных линий в этой группе либо соответствует природным сборам, либо линии были созданы в других лабораториях и гибридологическая история для нас остается неизвестной.

1.1.2. Группа «yellow»

Скрининг группы «yellow» проводился ограниченно, поскольку большинство линий было создано на основе применения метода сцепленных X-хромосом *C(1)DX, y w f*, донором цитоплазмы этих линий являются самки неинфицированной линии 1-163. Взятые нами в анализ линии группы «yellow» были созданы на основе сборов из природных популяций *D. melanogaster*, которые были получены и велись как изосамочки линии, мухи которых не скрещивались с мухами других линий. Исключение представляет только полученная в эксперименте линия 743a, генеалогия которой не до конца ясна. Среди линий группы «yellow» наиболее часто присутствует генотип *Wolbachia* wMel и только в двух случаях зафиксирован генотип wMelCS2.

1.1.3. Группа «хромосома 2»

Мухи значительной доли линий в группе «хромосома 2» не скрещивались с какими-либо другими и по материнской наследственности соответствуют сборам из природных популяций *D. melanogaster*. Этим объясняется частое присутствие *Wolbachia* генотипа wMel в этой группе в сравнении с группой «хромосома 1».

Для линий, мухи которых скрещивались с мухами других (маркерных) линий, установлена взаимосвязь с линией 2-23, донором хромосомы *In(2LR) Cy cn*. Если использовались самки линии 2-23, то их потомки оказывались инфицированными *Wolbachia* генотипа wMelCS2. Однако в отличие от схемы выделения X-хромосомы, для хромосомы 2 принципиально можно использовать самца в качестве донора балансерной хромосомы. В этом случае цитотип будет соответствовать исходной анализируемой линии, а не тестерной. Кроме того, если выделенная из природной популяции *D. melanogaster* хромосома, которая находится в компаунде с хромосомой

In(2LR) Cy cn, не несет летальную мутацию, то в течение культивирования балансерная хромосома может утратиться. По всей видимости, для большинства линий второй группы так и произошло. Только 5 линий из 21, инфицированных *Wolbachia* генотипа wMelCS2, содержат балансерную хромосому *In(2LR) Cy cn*. Кроме того, не для всех линий основного фонда имеются подробные родословные. Например, можно только предполагать, что при создании линии 2-54 *Pet / Cy*, инфицированной *Wolbachia* генотипа wMelCS2, и некоторых других линий, использовалась линия-маркер 2-23. В этом случае генетическое описание линии должно быть исправлено на *Pet / In(2LR) Cy cn*.

1.1.4. Группа «lethal giant larva»

Группу «lethal giant larva» по критерию локализации мутации можно объединить с группой «хромосома 2», однако мы рассматриваем ее отдельно. Большинство линий этой группы поддерживается в сбалансированном состоянии с хромосомой *In(2LR) Cy cn*. Для линий DV268, D149, D141, U245, B52, 705, 314, 4067, 4049, 4031, E430 и M119 донор балансерной хромосомы *In(2LR) Cy cn* документирован – это линия 2-23, самки которой использовались при создании указанных линий. В соответствии с этим мухи этих линий должны быть инфицированы *Wolbachia* генотипа wMelCS2. Однако для четырех линий, DV268, D149, U245 и B52, показан отрицательный статус инфицированности, что, с одной стороны, может говорить о потере эндосимбионта в течение их культивирования в лабораторных условиях, а с другой стороны, нельзя исключать и возможность неполноты сведений по истории родословных. Проверка митотипического статуса показала, что линия DV268 обладает S-митотипом, что не исключает возможности утраты *Wolbachia* в ходе культивирования линии, а в случае линии U245 митотип принадлежал другой кладе, нежели свойственной предполагаемому материнскому родителю – линии 2-23. Самым простым объяснением отличия цитотипа у линии U245 является то, что линия-донор балансерной хромосомы использовалась в качестве отцовского родителя, а анализируемая хромосома 2 была получена от самки, которая и обладала цитотипом M-w.

Мы не смогли определить митотип линий D149 и B52, поскольку ко времени типирования митохондриальной наследственности эти линии были утрачены.

Для линий 558 и 309 по записям в рабочих журналах удалось установить, что они несли материнскую наследственность линии 2-23, но впоследствии проводились скрещивания с другими линиями. Установить, в каком направлении и с какими именно линиями проводилась гибридологическая работа, в настоящее время невозможно. Однако даже если факт межлинейного скрещивания установлен, то это не определяет потерю эндосимбионта. Возможно, что бактерия была утрачена в течение культивирования линии, а в скрещиваниях использовались самцы из других линий в качестве отцовского родителя. В таком случае замещение цитоплазмы не должно наблюдаться. Поэтому мы внесли поправку для линий 558 и 309: заменили обозначения *l(2)gl / In(2LR) Cy cn* на *l(2)gl / Cy* (табл. 1).

Еще один случай возможной потери эндосимбионта мы обнаружили в линии 280 группы «lethal giant larva», которая представляет собой дубль линии 2-37 из группы «хромосома 2». Эти линии разделены в конце 1960-х годов и поддерживаются независимо в лабораторном фонде. Свое происхождение линия 2-37 ведет из фонда мух лаборатории Т. Моргана, США. В то время как мухи линии 2-37 инфицированы *Wolbachia* генотипа wMel, мухи линии 280 свободны от бактерии. При этом мухи обеих линий имеют одинаковый митотипический статус.

Предполагаемые факты утраты эндосимбионта в культивируемых линиях фонда могут послужить отправной точкой в исследованиях влияния определенных локусов ядерного генома *Drosophila* на присутствие и плотность бактерии в клетках хозяина. В частности, не исключена причастность локуса *lethal giant larva* к таким событиям, как «излечение» от *Wolbachia*.

1.1.5. Группа «хромосома 3»

Среди инфицированной цитоплазмы в группе «хромосома 3» преобладает генотип *Wolbachia* wMel. В четырех случаях выявлен генотип wMelCS, и две линии оказались инфицированы *Wolbachia* генотипа wMelCS2. Значительная

доля, а именно 71 % линий, не инфицирована. По всей видимости, это объясняется созданием многих линий с использованием неинфицированной линии 3-13, несущей балансерные хромосомы, маркированные доминантными видимыми мутациями *Dichate* и *Stubble* (*D / Sb*) с летальным рецессивным действием, и линии 1 (мультихромосомная группа), маркированной по хромосомам 2 и 3 – *Cy / L*; *D / Sb*.

1.2. Митотипическое и цитотипическое разнообразие *D. melanogaster*

Тестирование митохондриальной наследственности по однонуклеотидному полиморфизму 37C/T однозначно выявило принадлежность каждой линии к *M*- или *S*-кладе. Доля линий *S*-клады составляет 62 %, а *M*-клады – 38 %.

Цитотип формируется в результате сопоставления данных по инфекционному и митотипическому статусу линии. В соответствии с описанными классами «материнской наследственности» (две группы генотипов *Wolbachia* и отсутствие инфекции, а также два митотипа) теоретически могут существовать 6 цитотипов. В действительности же в линиях фонда наблюдалось только 4 цитотипа *M*-MEL, *M*-w⁻, *S*-CS, *S*-w⁻ (табл. 3), что указывает на существование коэволюции митохондриальной и бактериальной наследственности (Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013).

Среди линий *D. melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН наиболее представлен цитотип *S*-w⁻, обнаруженный для 40 % линий. Такая частая встречаемость данного цитотипа определяется использованием при создании новых линий самок линии 1-163, обладающих этим цитотипом. Доля остальных цитотипов варьирует от 17 до 22 %. При этом заметная доля редкого для природных популяций цитотипа *S*-CS образована линиями, созданными при использовании самок балансерных линий 1-90 и 2-23, инфицированных *Wolbachia* генотипа wMelCS2.

Мы показали широкую распространенность и генотипическое разнообразие эндосимбионта *Wolbachia* среди мутантных и тестерных линий фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН. Эндосимбионт *Wolbachia* поддерживается в течение длительного времени в линиях фонда. В двух случаях для линий DV268 и DV280 мы предполагаем, что *Wolbachia* могла быть утрачена в ходе культивирования. Цитотипическое разнообразие представлено 4 описанными ранее главными цитотипами: *M*-MEL, *M*-w⁻, *S*-CS, *S*-w⁻.

ОБСУЖДЕНИЕ

Первое сообщение о присутствии *Wolbachia* у *D. melanogaster* было сделано на основе результатов микроскопических исследований

Таблица 3

Цитотипы мутантных линий *Drosophila melanogaster* фонда лаборатории генетики популяций Института цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (г. Новосибирск)

Группа	Число линий	Цитотип			
		<i>M</i> -MEL	<i>M</i> -w ⁻	<i>S</i> -CS	<i>S</i> -w ⁻
Хромосома 1	117	6	12	28	70
Хромосома 2	77	18	14	23	22
Хромосома 3	82	18	26	6	32
Хромосома 4	6	1	1	2	2
Транслокации	8	2	2	1	3
Мультихромосомная	24	1	5	7	11
<i>yellow</i>	22	13	6	2	1
<i>lethal giant larva</i> *	17	1	5	9	1
Всего	353	60	71	78	142

Примечание. * Для двух линий митотип не определен, поскольку они погибли до проведения анализа.

в середине 1960-х гг. (Wolstenholme, 1965), а в начале 1990-х гг. появились сообщения о молекулярной идентификации эндосимбионта (Glover *et al.*, 1990; O'Niell, Karr, 1990; O'Niell *et al.*, 1992). Последующие исследования выявили широкую распространенность бактерии в природных популяциях (Solignac *et al.*, 1994; Hoffmann *et al.*, 1994, 1998; Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008; Nunes *et al.*, 2008; Verspoor, Haddrill, 2011; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013) и лабораторных линиях *D. melanogaster* (Clark *et al.*, 2005). Оказалось, что *Wolbachia* способна оказывать влияние на самые разные аспекты биологии плодовой мушки, а именно на репродуктивную систему (Fry *et al.*, 2004), продолжительность жизни (Fry *et al.*, 2004; Вайсман и др., 2009), проявление некоторых ядерных мутаций (Starr, Cline, 2002; Clark *et al.*, 2005; Ikeya *et al.*, 2009), и даже определяет разнообразие мтДНК вида посредством непрямого отбора (Илинский, Захаров 2007а; Nunes *et al.*, 2008; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013).

Наблюдаемое генотипическое разнообразие *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* вызывает ряд вопросов. Каково генотипическое разнообразие *Wolbachia* в линиях фонда? Имеется ли связь инфицированности с длительностью культивирования линий дрозофил в лаборатории? Как связаны инфицированность и история происхождения линий? Есть ли влияние мутаций на присутствие в цитоплазме *D. melanogaster* эндосимбионта *Wolbachia*?

Ответы на эти вопросы могут помочь выявить особенности биологии взаимоотношений симбионт–хозяин. Это может стать особенно важным для работ, в которых цитоплазматический фон *D. melanogaster* не принимался во внимание, что подразумевает переосмысление полученных ранее результатов, а также учет существующих различий по цитоплазматическим факторам при планировании и постановке в будущем экспериментов с использованием лабораторных тестерных линий.

Из 6 генотипов *Wolbachia*, описанных ранее для природных популяций дрозофил, в мутантных линиях фонда лаборатории генетики популяций ИЦиГ СО РАН мы выявили 3: wMel, wMelCS, wMelCS2. Эти генотипы входят в группу 4 наиболее распространенных в природе генотипов. Нами не был выявлен распростра-

ненный на обширной территории Азии (Индия, Япония, Китай, страны Юго-Восточной Азии) генотип wMel2. Наблюдаемое генотипическое разнообразие *Wolbachia* среди мутантных линий фонда объясняется, во-первых, цитотипом линий-основателей, используемых при создании новых линий, во-вторых, территорией сборов природных популяций для линий, выделенных и поддерживаемых как изосамочки и изогенные линии. Действительно, наиболее часто сборы мух из природных популяций сотрудниками нашей лаборатории осуществляются на территории Восточной Европы, Средней Азии и Алтая, для популяций которых характерно присутствие генотипов wMel, wMelCS и wMelCS2. Таким образом, представленность генотипов *Wolbachia* в фонде мутантных линий может отражать качественный состав генотипов на исследуемой территории. Однако количественное выражение встречаемости генотипов в целом по фонду слабо согласуется с наблюдаемыми в природных популяциях *D. melanogaster* частотами генотипов *Wolbachia* (Илинский, Захаров, 2007а, б; Илинский, 2008). Так, в природных популяциях наиболее часто встречается генотип wMel, который зачастую представлен тотально среди инфицированных особей. В случае фонда мутантных линий встречаемость генотипа wMel составляет менее 50 %, тогда как на долю редкого в природе генотипа wMelCS2 приходится 47 % от доли всех инфицированных линий.

Поскольку митохондрии и эндосимбионт *Wolbachia* сонаследуются вместе, можно ожидать коэволюционные изменения двух компонентов материнской наследственности (Hurst, Jiggins, 2005). Указание на существование подобного эффекта для *D. melanogaster* было констатировано в нескольких публикациях (Ilinsky, Zakharov, 2006; Илинский, Захаров, 2007а; Nunes *et al.*, 2008) и окончательно установлено в недавних работах (Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013).

Использование однонуклеотидного полиморфизма 37С/Т для подразделения митотипов на две древние клады обосновывается подробными исследованиями разнообразия мтДНК и филогенетическим анализом. Предковая популяция *D. melanogaster*, из которой развилось современное разнообразие материнской наследственности, существовала не позднее

14 тыс. лет назад в тропической Африке (David, Caru, 1988; Richardson *et al.*, 2012; Ilinsky, 2013). В этой популяции произошло разделение митохондриальной наследственности на две главные клады *M* и *S*, а также на две ныне существующие группы генотипов *Wolbachia*.

В нашем исследовании фонда мутантных лабораторных линий *D. melanogaster* мы выявили присутствие четырех цитотипов, *M-MEL*, *M-w⁻*, *S-CS* и *S-w⁻* (табл. 3), а не 6 теоретически возможных, что согласуется с данными по природным популяциям (Ilinsky, 2013). Наиболее представлен цитотип *S-w⁻*, обнаруженный у 40 % линий. Такая частая встречаемость цитотипа определяется линиями, созданными на основе линии 1-163, обладающей этим цитотипом. Необходимо отметить, что существование двух цитотипов, *M-CS* и *S-MEL*, не исключено. Обнаружение этих сочетаний будет указывать на факт горизонтального переноса компонента материнской наследственности. При этом наиболее вероятно этим компонентом будет выступать эндосимбионт. Перенос *Wolbachia* в эволюции между разными видами документирован очень хорошо (Cordaux *et al.*, 2001; Sintupachee *et al.*, 2006; Baldo *et al.*, 2008; Watanabe *et al.*, 2012; Guidolin, Consoli, 2013). При этом перенос внутри вида, как ожидается, также должен быть интенсивным относительно эволюционной шкалы времени, однако подобные факты выявить трудно и они не многочисленны. Так, разнообразные комбинации генотипических профилей *Wolbachia* и гаплотипов митохондриальной ДНК у паука *Agelenopsis aperta* (Baldo *et al.*, 2008) авторами аргументированно объясняются именно горизонтальным переносом *Wolbachia* внутри вида. В случае *D. melanogaster* мы можем констатировать факт горизонтального переноса, если обнаружим сочетание генотипа *Wolbachia* из группы *Mel* с митохондриальным фоном *S* (или *CS* с *M*), но не в случае переноса *Mel* на фон *M* (*CS* – *S*). Однако при высокой частоте встречаемости цитотипов *M-Mel* и *M-w⁻* в природных популяциях все основное количество событий горизонтального переноса должно происходить именно среди этих цитотипов.

Определение митотипа и статуса инфицированности линии в совокупности с генотипированием *Wolbachia* оказывается простым и

надежным приемом проверки происхождения линий или истинности гибридов. Такая проверка оказывается особенно актуальной, ввиду того что во многих лабораториях мира в экспериментальной работе используется ограниченное число линий дикого типа. Например, две наиболее популярные линии *D. melanogaster*, *Canton-S* и *Oregon-R*, на основе которых создавались многие другие линии, обладают цитотипами *S-CS* (*wMelCS*) и *S-w⁻* соответственно.

Использованные нами протоколы определения цитотипа могут найти прикладное применение в экспериментальной работе с *D. melanogaster*, не связанной напрямую с исследованием *Wolbachia* или митохондриальной наследственности. Так, в работе с экспериментальными популяциями при использовании изначально двух цитотипов, можно оценивать уровень генетического дрейфа, поскольку матерински наследуемые факторы зачастую можно рассматривать как селективно нейтральные.

Работа частично финансировалась и поддержана Российским фондом фундаментальных исследований, гранты № 12-04-01319-а и № 12-04-31784-мол_а, и Программой фундаментальных исследований Президиума РАН «Живая природа: Современное состояние и проблемы развития», проект № 30.33.

Авторы благодарят Н.А. Вайсман за замечания и предложения, высказанные при описании группы «*lethal giant larva*».

ЛИТЕРАТУРА

- Вайсман Н.Я., Илинский Ю.Ю., Голубовский М.Д. Популяционно-генетический анализ продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*: сходные эффекты эндосимбионта *Wolbachia* и опухолевого супрессора *Igl* в условиях температурного стресса // Журн. общ. биологии. 2009. Т. 70. № 5. С. 425–434.
- Вайсман Н.Я., Голубовский М.Д., Илинский Ю.Ю. Различия в параметрах продолжительности жизни и ее пол-специфичности в популяциях человека и их моделирование на дрозофиле // Усп. геронтологии. 2013. Т. 26. № 1. С. 66–75.
- Илинский Ю.Ю. Эндосимбионт *Wolbachia* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Северной Евразии: Дис. ... канд. биол. наук. Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2008. 154 с.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Характеристика инфицированности цитоплазматическим эндосимбионтом *Wolbachia* популяции *Drosophila melanogaster* Умани // Докл. АН. 2007а. Т. 413. № 4. С. 561–563.

- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. 2007. Т. 43. № 7. С. 905–915.
- Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Цитоплазматическая несовместимость у *Drosophila melanogaster*, обусловленная различными генотипами *Wolbachia* // Экол. генетика. 2009. Т. 7. № 2. С. 11–18.
- Струнов А.А., Илинский Ю.Ю., Захаров И.К., Киселева Е.В. Влияние повышенной температуры на выживаемость *Drosophila melanogaster*, индуцированных патогенным штаммом бактерий *Wolbachia* // Вавилов. журн. генет. и селекции. 2013. Т. 17. № 2. С. 267–276.
- Baldo L., Ayoub N.A., Hayashi C.Y. *et al.* Insight into the routes of *Wolbachia* invasion: high levels of horizontal transfer in the spider genus *Agelenopsis* revealed by *Wolbachia* strain and mitochondrial DNA diversity // Mol. Ecol. 2008. V. 17. P. 557–569.
- Bandi C., Anderson T.J., Genchi C., Blaxter M.L. Phylogeny of *Wolbachia* in filarial nematodes // Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1998. V. 265. P. 2407–2413.
- Bian G., Joshi D., Dong Y. *et al.* *Wolbachia* invades *Anopheles stephensi* populations and induces refractoriness to *Plasmodium* infection // Science. 2013. V. 340. P. 748.
- Bressac C., Rousset F. The reproductive incompatibility system in *Drosophila simulans*: Dapi-staining analysis of the *Wolbachia* symbionts in sperm cysts // J. Invertebr. Pathol. 1993. V. 61. P. 226–230.
- 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. V. 170. P. 1667–1675.
- Cordaux R., Michel-Salzat A., Bouchon D. *Wolbachia* infection in crustaceans: novel hosts and potential routes for horizontal transmission // J. Evol. Biol. 2001. V. 14. P. 237–243.
- David J.R., Capy P. Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations // Trends Genet. 1988. V. 4. P. 106–111.
- De Barro P.J., Hart P.J. Antibiotic curing of parthenogenesis in *Eretmocerus mundus* (Australian parthenogenic form) // Entomol. Experimentalis et Applicata. 2001. V. 99. P. 225–230.
- Dobson S.L., Marsland E.J., Rattanadechakul W. Mutualistic *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus*: Accelerating cytoplasmic drive // Genetics. 2002. V. 160. P. 1087–1094.
- Finnegan D.J. Transposable elements // Drosophila Information Service. 1990. No. 68. P. 371–382.
- Fry A.J., Palmer M.R., Rand D.M. Variable fitness effects of *Wolbachia* infection in *Drosophila melanogaster* // Heredity. 2004. V. 93. P. 379–389.
- Glover D.M., Raff J., Karr T.L. *et al.* Parasites in *Drosophila* embryos // Nature. 1990. V. 348. P. 117.
- Guidolin A.S., Consoli F.L. Molecular characterization of *Wolbachia* strains associated with the invasive Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* in Brazil // Microb. Ecol. 2013. V. 65. P. 475–486.
- Hedges L.M., Brownlie J.C., O'Neill S.L., Johnson K.N. *Wolbachia* and virus protection in insects // Science. 2008. V. 322. P. 702.
- Hilgenboecker K., Hammerstein P., Schlattmann P. *et al.* How many species are infected with *Wolbachia*? – A statistical analysis of current data // FEMS Microbiol. Lett. 2008. V. 281. P. 215–220.
- Hoffmann A.A., Clancy D.J., Merton E. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1994. V. 136. P. 993–999.
- Hoffmann A.A., Hercus M., Dagher H. Population dynamics of the *Wolbachia* infection causing cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 1998. V. 148. P. 221–231.
- Hurst G.D.D., Jiggins F.M. Problems with mitochondrial DNA as a marker in population, phylogeographic and phylogenetic studies: the effects of inherited symbionts // Proc. Biol. Sci. 2005. V. 272. P. 1525–1534.
- Ikeya T., Broughton S., Alic N. *et al.* The endosymbiont *Wolbachia* increases insulin/IGF-like signalling in *Drosophila* // Proc. R. Soc. B. 2009. V. 206. P. 3799–3807.
- Ilinsky Y., Zakharov I.K. Genetic correlation between types of mtDNA of *Drosophila melanogaster* and genotypes of its primary endosymbiont, *Wolbachia* // Drosophila Information Service. 2006. V. 89. P. 89–91.
- Ilinsky Y. Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes // PLoS ONE. 2013. V. 8. No. 1. e54373.
- Kremer N., Voronin D., Charif D. *et al.* *Wolbachia* interferes with ferritin expression and iron metabolism in insects // PLoS Pathog. 2009. V. 5. No. 10. e1000630.
- Lindsley D.L., Grell E.H. Genetic Variation of *Drosophila melanogaster*. Carnegie Institution of Washington Publ., 1968. 472 p.
- Lindsley D.L., Zimm G. The Genome of *Drosophila melanogaster* // Drosophila Information Service. 1985. No. 62. 227 p.
- Lindsley D.L., Zimm G. The Genome of *Drosophila melanogaster* // Drosophila Information Service. 1990. No. 68. 382 p.
- Marmur J. A procedure for the isolation of deoxyribonucleic acid from microorganisms // J. Mol. Biol. 1961. V. 3. P. 208–218.
- Mercot H., Charlat S. *Wolbachia* infections in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: Polymorphism and levels of cytoplasmic incompatibility // Genetica. 2004. V. 120. P. 51–59.
- 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. V. 94. P. 10792–10796.
- Mobile DNA / Eds D.E. Berg, M.M. Howe. American Society for Microbiology. Washington, DC. 1989. 958 p.
- Nunes M.D.S., Nolte V., Schlotterer C. Nonrandom *Wolbachia* infection status of *Drosophila melanogaster* strains with different mtDNA haplotypes // Mol. Biol. Evol. 2008. V. 25. No. 11. P. 2493–2498.
- O'Neill S.L., Karr T.L. Bi-directional incompatibility between on specific populations of *Drosophila simulans* // Nature. 1990. V. 348. P. 178–180.
- O'Neill S.L., Giordano R., Colbert A.M. *et al.* 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 1992. V. 89. P. 2699–2702.
- Osborne S.E., Leong Y.S., O'Neill S.L., Johnson K.N. Variation in antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans* // PLoS Pathog. 2009. V. 5. No. 11. P. 1–9.
- Reynolds K.T., Thomson L.J., Hoffmann A.A. The effects of host age, host nuclear background and temperature on phenotypic effects of the virulent *Wolbachia* strain popcorn in *Drosophila melanogaster* // Genetics. 2003. V. 164. P. 1027–1034.

- Richardson M.F., Weinert L.A., Welch J.J. *et al.* Population genomics of the *Wolbachia* endosymbiont in *Drosophila melanogaster* // PLoS Genet. 2012. V. 8. No. 12. e1003129.
- Riegler M., Sidhu M., Miller W.J., O'Neill S.L. Evidence for a global *Wolbachia* replacement in *Drosophila melanogaster* // Curr. Biol. 2005. V. 15. P. 1428–1433.
- Riegler M., Iturbe-Ormaetxe I., Woolfit M. *et al.* Tandem repeat markers as novel diagnostic tools for high resolution fingerprinting of *Wolbachia* // BMC Microbiol. 2012. V. 12.
- Sintupachee S., Milne J.R., Poonchaisri S. *et al.* Closely related *Wolbachia* strains within the pumpkin arthropod community and the potential for horizontal transmission via the plant // Microbial Ecol. 2006. V. 51. P. 294–301.
- Solignac M., Vautrin D., Rousset F. Widespread occurrence of the proteobacteria *Wolbachia* and partial cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* // C. R. Acad. Sci. Paris. 1994. V. 317. P. 461–470.
- Starr D.J., Cline T.W. A host parasite interaction rescues *Drosophila* oogenesis defects // Nature. 2002. V. 418. P. 76–79.
- Taylor M.J., Bandi C., Hoerauf A.M., Lazdins J. *Wolbachia* bacteria of filarial nematodes: A target for control? // Parasitol. Today. 2000a. V. 16. P. 179–180.
- Taylor M.J., Cross H.F., Bilo K. Inflammatory responses induced by the filarial nematode *Brugia malayi* are mediated by lipopolysaccharide-like activity from endosymbiotic *Wolbachia* bacteria // J. Exp. Med. 2000b. V. 191. P. 1429–1436.
- Teixeira L., Ferreira A., Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster* // PLoS Biol. 2008. V. 6. No. 12. P. 2753–2763.
- 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. V. 6. No. 10. e26318.
- Watanabe M., Tagami Y., Miura K. *et al.* Distribution patterns of *Wolbachia* endosymbionts in the closely related flower bugs of the genus *Orius*: Implications for coevolution and horizontal transfer // Microb. Ecol. 2012. V. 64. P. 537–545.
- Werren J.H. Biology of *Wolbachia* // Annu. Rev. Entomol. 1997. V. 42. P. 587–609.
- Wolstenholme D.R. A DNA and RNA-containing cytoplasmic body in *Drosophila melanogaster* and its relation to flies // Genetics. 1965. V. 52. P. 949–975.
- Zheng Y., Ren P.-P., Wang J.-L., Wang Y.-F. *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility is associated with decreased Hira expression in male *Drosophila* // PLoS ONE. 2011. V. 6. No. 4. e19512.
- Zabalou S., Apostolaki A., Pattas S. *et al.* Multiple rescue factors within a *Wolbachia* strain // Genetics. 2008. V. 178. P. 2145–2160.
- Zug R., Hammerstein P. Still a host of hosts for *Wolbachia*: Analysis of recent data suggests that 40 % of terrestrial arthropod species are infected // PLoS ONE. 2012. V. 7. No. 6. e38544.
- Zhou W., Rousset F., O'Neil S. Phylogeny and pcr-based classification of *Wolbachia* strains using wsp gene sequences // Proc. Biol. Sci. 1998. V. 265. P. 509–515.

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

Yu.Yu. Ilinsky^{1,2}, R.A. Bykov¹, I.K. Zakharov^{1,2}

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: paulee@bionet.nsc.ru;

² Novosibirsk National Research State University, Novosibirsk, Russia

Summary

Wolbachia is a genus of maternally inherited bacteria that is widespread in field populations of *Drosophila melanogaster*. However, there are no sufficient data on *Wolbachia* infection among laboratory mutant stocks. We show the wide prevalence of *Wolbachia* among 353 mutant stocks from the collection of the Genetics of Populations Laboratory, Institute of Cytology and Genetics (ICG), Novosibirsk, Russia. The endosymbiont has been stably inherited in laboratory stocks for a long period of time. Two uninfected stocks from the collection are considered as a result of bacteria loss during maintaining them in the laboratory. There are three *Wolbachia* genotypes: wMel, wMelCS, and wMelCS2 in the collection. As endosymbiont is coinherited with mitochondria the definite cytotypes are formed from *Wolbachia* genotypes and mytotypes. We have revealed four cytotypes: M-MEL, M-w⁻, S-CS, and S-w⁻ in the collection that had been described earlier for field populations of *D. melanogaster*. The cytotypic and genotypic frequency patterns differ significantly from those encountered in the wild, that is accounted for genealogy of each stock.

Key words: genetic collections, *Drosophila melanogaster*, *Wolbachia*, mitotype, genotype, cytotypic, coevolution.