

тания и на суходолах. Формирующие болотные и суходольные популяции виды *Pinaceae* являются диплоидами ($2n = 2x = 24$). В болотных популяциях хвойных распространена миксплоидия. Отличительной особенностью кариотипов деревьев из болотных популяций *Pinaceae*, по сравнению с суходольными, является увеличение числа вторичных перетяжек в хромосомах и количества ядрышек в интерфазных ядрах, что связано с активизацией ядрышковых организаторов и перестройками нуклеолярных районов хромосом. Болотные популяции хвойных, по сравнению с суходольными, характеризуются широким спектром хромосомных мутаций и патологий митоза.

Karyological differentiation of bog and dry valley populations of *Pinaceae* is due to differences of microevolutional process in forest stands in contrast environmental condition of bogs and dry valleys. Diploid chromosomal sets of dry valley populations of *Pinaceae* species are equal to $2n = 2x = 24$. In bog populations of conifers mixoploidy is usual. The main feature of karyotypes of trees from bog populations of *Pinaceae*, in compare with dry valley ones, is increasing of number of secondary constrictions in chromosomes and number of nucleoli in interphase nuclei, connected with activity of nucleolar organization regions and mutations of nucleolar regions of chromosomes. Bog populations of conifers, in compare with dry valley ones, are characterized by wide spectrum of chromosomal anomalies and pathologies of mitosis.

СЕРГА С.В., КОЗЕРЕЦКАЯ И.А.

Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко,
пр. Глушкова, 2, г. Киев, 03022, Украина; E-mail: kozeri@gmail.com

УРОВЕНЬ ИНФИЦИРОВАННОСТИ ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ДРОЗОФИЛИД КИЕВА ВНУТРИКЛЕТОЧНОЙ БАКТЕРИЕЙ *WOLBACHIA*

Wolbachia является известным и широко распространенным симбионтом беспозвоночных. Она инфицирует по разным данным от 60 до 80% видов насекомых, изопод и нематод [1, 2]. Среди дрозофилид *Wolbachia* встречается у довольно большого количества видов: она идентифицирована у 23 видов подрода *Sophophora* (из протестированных 86; 27%) и у 4 видов подрода *Drosophila* (из протестированных 143; 3%) [3]. Бактерия способна вызывать модификации полового размножения беспозвоночных, такие как цитоплазматическая несовместимость, андроцид, переход к партеногенезу и феминизацию [4]. При этом характер взаимодействия с организмом-хозяином зависит как от самого вида-хозяина, так и от штамма бактерии. Известны штаммы *Wolbachia*, которые модификации полового размножения не вызывают и никаких других фенотипических эффектов для них не описано [5]. У дрозофилид бактерия вызывает высокий или низкий уровень цитоплазматической несовместимости [6], либо инфицированность бактерией к модификациям полового размножения не приводит [5].

Wolbachia широко распространена в природных популяциях и лабораторных линиях дрозофилид [3, 5, 6]. Так, бактерия обнаружена в 28,9% линий *Drosophila melanogaster* из BDSC [7], но, возможно, она инфицирует намного большее число линий, так как большинство лабораторных линий на её наличие не тестировались. Распространение *Wolbachia* в природных популяциях дрозофилид чрезвычайно широко: она описана в популяциях дрозофилид Африки, Южной и Северной Америк, Австралии, Евразии и Японии [3, 5, 8]. Бактерия была обнаружена также и в природных популяциях дрозофилид Украины [9, 11].

Уровень инфицированности *Wolbachia* в природных популяциях дрозофилид варьирует от 2 до 100% [6, 10, 11]. При этом частота инфицированности одинаково вариабельна 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 *Hoffmann et al.*, где показана высокая частота встречаемости *Wolbachia* в природных популяциях севера Австралии и низкая в южных регионах [6]. Но в работах других авторов по исследованию природных популяций других локалитетов такой зависимости не показано [10, 11]. Уровень инфицированности различается у различных штаммов бактерии. Так, для штамма wMel, который инфицирует *D. melanogaster* и вызывает только низкий уровень цитоплазматической несовместимости, он составляет от 15 до 100% [11], тогда как для штамма wRi, который вызывает высокий уровень цитоплазматической несовместимости и инфицирует *Drosophila simulans*, он в целом выше и составляет 80–100 [8, 10].

В работе произведен анализ уровня инфицированности внутриклеточной бактерией *Wolbachia* природной популяции дрозофилид Киева сборов трех лет, в которой ранее такой анализ не проводился.

Материалы и методы

Место сбора дрозофилид. Выборки из природных популяций дрозофилид были собраны в летние сезоны (август — сентябрь) 2007, 2008 и 2009 годов в Киеве на территории фруктового сада Феофания. Место сбора характеризуется значительной плотностью популяции плодовых мушек в период сбора. Отлов дрозофилид производился как непосредственно на упавших подгнивших фруктах, так и с использованием приманок. Следует также отметить, что это природная популяция, с которой в 40–80 гг. работали Гершензон и соавторы [12].

Выделение ДНК. ДНК выделяли из потомства первого поколения индивидуальных самок, собранных в природе. Для этого брали 10 особей из потомства каждой самки отдельно. Выделение проводили с использованием QIAamp DNA Micro Kit (“Qiagen”).

Параметры ПЦР. Наличие бактерии в препаратах ДНК определяли с использованием праймеров, которые специфичны к высококонсервативному фрагменту гена 16s рПНК *Wolbachia* длиной 438 п. о. (5'-CAT ACC TAT TCG AAG GGA TAG, 5'-AGC TTC GAG TGA AAC CAA TTC). ПЦР проводили

по схеме: 3 минуты при температуре 94°C, 30 циклов, состоящих из 30 с при 94 °С, 45 с при 55 °С, 60 с при 72 °С, и 7 минут при 72 °С. Реакция проводилась в смеси 20 мкл (2 мкл ДНК, 4 мкл ПЦР буфера, 2 мкл MgCl₂, 2 мкл 2,5 мМ dNTP, 2 мкл 20 мМ праймеров, 0,25 Taq, 8 мкл воды), которая была приготовлена для всех проб вместе, а уже потом добавлялась ДНК. В качестве положительного контроля использовали ДНК из природной популяции *D. melanogaster* Умани, где диагностировано присутствие бактерии [9], для негативного контроля использовалась ДНК лабораторной линии дикого типа *Drosophila virilis*, не содержащей представителей искомого эндосимбионта.

Результаты и обсуждение

В работе произведено тестирование потомства первого поколения 10 самок сбора 2007 года, 30 самок сбора 2008 года и 30 самок сбора 2009 года на наличие *Wolbachia*. Частоты инфицированности дрозофилид бактерией из природной популяции Киева приведены на рис. для сборов трех лет.

Уровень инфицированности бактерией в сборах трех лет является высоким и его колебания не значительны. Хотелось бы отметить в этой связи, что сборы дрозофилид проводились в конце летнего сезона и полученные данные касаются именно этого периода. Возможно, в начале и середине сезона уровень инфицированности будет характеризоваться иными показателями. В то же время следует отметить, что в работе *Hoffmann et al.* рассматривается временная динамика уровня инфицированности на протяжении года в природных популяциях *D. melanogaster* Австралии и не отмечается какой-либо зависимости данного показателя от времени года. Он зафиксировал самый низкий и самый высокий уровень инфицированности в разные сезоны в различных популяциях Австралии [6]. Исходя из этого, можно принять полученные уровни инфицированности, как характерные для данной популяции дрозофилид вообще.

Установленные нами уровни инфицированности указанным эндосимбиотном значительно отличаются от таковых, приводимых Илинским Ю.Ю. и Захаровым И.К. для природных популяций *D. melanogaster* Евразии. Они указывают на то, что в природных популяциях Украины, так же как и Белоруссии и Молдавии, наблюдается низкий, в сравнении с другими иссле-

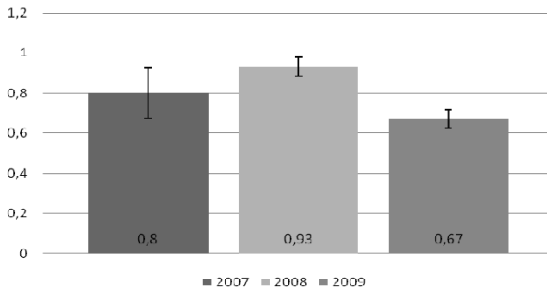


Рис. Результаты анализа уровня инфицированности *Wolbachia* природной популяции дрозофилид г. Киева

Статус инфицированности *Wolbachia* в природных популяциях *D. melanogaster* Украины за период с 1974 по 2005 г (по Илинский Ю.Ю., Захаров И.К., 2007)

Регион, популяции и год сбора	Линии без <i>Wolbachia</i>	Линии с <i>Wolbachia</i>	Число обследованных линий
Украина, Умань, 1984	11	4	15
Украина, Умань, 1987	6	5	11
Украина, Умань, 1988	10	2	12
Украина, Умань, 1989	4	4	8
Украина, Умань, 1990	15	12	27
Украина, Умань, 1991	9	9	18
Украина, Умань, 1993	14	3	17
Украина, Умань, 2003	6	14	20
Украина, Звенигородка, 2003	12	8	20
Украина, Никополь, 2003	15	6	21
Украина, Умань, 2004	17	3	20
Украина, Крым — Ялта, 2005	35	11	46

дованными ими популяциями, уровень инфицированности, который составляет в среднем 39% (табл.) [11]. В то же время *Ballard* в работе посвященной природным популяциям *D. simulans* отмечает высокий уровень инфицированности *Wolbachia* природных популяций данного вида из Украины, который составляет около 90% [10]. Данный результат совпадает с нашим в сборах 2008 и 2007 годов, но в 2009 году частота собранных инфицированных особей статистически достоверно была ниже.

Выводы

В природной популяции дрозофилид Киева наблюдается высокий уровень инфицированности внутриклеточной бактерией *Wolbachia*, который составляет $80 \pm 12,7$, $93 \pm 4,5$ и $67 \pm 4,5$ % в сборах 2007, 2008 и 2009 годов соответственно.

Литература

1. Горячева И.И. Бактерии рода *Wolbachia* — репродуктивные паразиты членистоногих // Успех. совр. биол.— 2004.— Т.124.— №3.— С. 246–259.
2. Hilgenboecker K., Hammerstein P., Schlattmann P., Telschow A., Werren J.H. How many species are infected with *Wolbachia*?—A statistical analysis of current data // FEMS Microbiol Lett.— 2008.— V.281.— P. 215–220.
3. Mateos M., Castrezana S.J., Nankivell B.J., Estes A.M., Markow T.A., Moran N.A. Heritable Endosymbionts of *Drosophila* // Genetics.— 2006.— Vol.174.— P. 363–376.
4. Werren J. H. Biology of *Wolbachia* // Annu. Rev. Entomol.— 1997.— Vol.42.— P. 587–609.
5. Hoffmann A. A., Clancy D. and Duncan J. Naturally-occurring *Wolbachia* infection in *Drosophila simulans* that does not cause cytoplasmic incompatibility // Heredity.— 1996.— Vol.76.— P. 1–8.

6. *Hoffman 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.

7. *Clark M.E., Anderson C.L., Candler J. et al.* Widespread prevalence of *Wolbachia* in laboratory stocks and the implications for *Drosophila* research // *Genetics*.— 2005.— V.170.— P. 1667–1675.

8. *Weeks A.R., Turelli M., Harcombe W.R., Reynolds K.T., Hoffmann A.A.* From parasite to mutualist: Rapid evolution of *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila* // *PLoS Biol.*— 2007.— 5(5): e114. doi:10.1371/journal.pbio.0050114.

9. *Серга С.В., Проценко А.В., Жук О.В., Козерецкая И.А.* *Wolbachia sp.* и соотношение полов в природных популяциях *Drosophila melanogaster* Украины // *Достижения і проблеми генетики, селекції та біотехнології*: Зб. наук. пр. / Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М.І.Вавилова.— К.: Логос, 2007.— Т.1.— С. 304–308.

10. *Ballard J. W.O.* Sequential Evolution of a Symbiont Inferred From the Host: *Wolbachia* and *Drosophila simulans* // *Mol. Biol. Evol.*— 2004.— 21(3).— P. 428–442.

11. *Илинский Ю.Ю., Захаров И.К.* Эндосимбионт *Wolbachia* в Евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // *Генетика*.— 2007.— Т.43, №7.— С. 905–915.

12. *Гершензон С.М.* Аналитический обзор исследований по популяционной генетике, проведенных в Национальной академии наук Украины.— Киев.— 1996.— 72 с.

Резюме

В работе произведен анализ уровня инфицированности природной популяции дрозофилид Киева в сборах трех лет. Анализ проводился методом ПЦР с использованием специфических праймеров. Результаты показали высокий уровень инфицированности исследуемой популяции в течении периода исследования.

У роботі здійснено аналіз рівня інфікованості природної популяції дрозофілід Києва у зборах трьох років. Аналіз проводився методом ПЛР з використанням специфічних праймерів. Результати показали високий рівень інфікованості досліджуваної популяції на протязі періоду досліджень.

The work presents the results of an analysis of the infection rate in a natural drosophilid population from Kyiv based on samples collected during three years. The analysis employed PCR using specific primers. The results demonstrate a high level of infection of the investigated population during the whole period of the study.

СИГИДИНЕНКО Л.И., КИРПИЧЕВА И.В.

*Луганский национальный аграрный университет,
Украина, 91008, г. Луганск, ЛНАУ, e-mail: kirinopsis@rambler.ru*

ЭКОТИП LUGANSK (LUG0) АРАБИДОПСИСА ТАЛЯ

В настоящее время в таких мировых центрах по сохранению коллекций арабидопсиса как Nottingham Arabidopsis Stock Center (NASC, UK); American Biological Resource Center (ABRC, USA); Sendai Arabidopsis Seed Stock Center (SASSC, Japan) поддерживается множество экотипов (географических рас) арабидопсиса Таля (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.). Экотипы называют по городам или географическим пунктам, где они найдены (Landsberg, Dijon,