

КЛІМАТИЧНІ ФАКТОРИ ТА ЧАСТОТИ ІНФІКУВАННЯ *WOLBACHIA* В ПРИРОДНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Н.В. ГОРА^{1,*}, С.В. СЕРГА¹, О.М. МАЙСТРЕНКО^{1,2}, А. СЬЛЕНЗАК-ПАРНІКОЗА³, І.Ю. ПАРНІКОЗА⁴,
О.М. ТАРАСЮК⁵, С.В. ДЕМИДОВ¹, І.А. КОЗЕРЕЦЬКА⁴

¹ Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна, Київ, 01601, вул. Володимирська, 60

² Європейська молекулярно-біологічна лабораторія, Німеччина, Гайдельберг, 69117, Меєрхофстрасс, 1

³ Група захисту вовків Ельблонзької височини, Польща, Вармінсько-Мазурське воєводство, 82-340, Толькмицько, Бжезіна, 2а

⁴ Державна установа Національний антарктичний науковий центр Міністерства науки і освіти України, Україна, Київ, 01601, бул. Тараса Шевченка, 16

⁵ Брестський державний університет імені О.С. Пушкіна, Республіка Білорусь, Брест, 224016, бульвар Космонавтів, 21

* E-mail: nazaragora@gmail.com

Ендосимбіотичні бактерії Wolbachia широко поширені в природних популяціях Drosophila melanogaster, яка є космополітичним і синантропним видом. Різні аспекти інфікування Wolbachia активно вивчаються в артропод, включаючи дрозофілу. Однак, вплив кліматичних факторів на рівні інфікованості Wolbachia в природних популяціях дрозофіли досліджений недостатньо. В роботі проведено аналіз впливу середніх значень температури, кількості опадів та рівня потенційної евапотранспірації на частоти інфікованості Wolbachia у досліджуваних нами 10 популяціях D. melanogaster (зібраних в Європі) разом з даними з робіт інших авторів як для різних континентів, так і для кліматичних зон всього світу (280 популяцій – 10806 ізосамкових ліній). Встановлено вплив всіх досліджених кліматичних факторів на частоту інфікованості Wolbachia. Найвищі рівні інфікованості спостерігаються в діапазоні 20–25 °С середньої річної температури, що відповідає умовам утримання мух в лабораторії. Засвідчено клінальний розподіл рівнів інфікованості Wolbachia в Євразійських популяціях дрозофіли. Також кліматичні фактори мають більш сильний вплив на інфікованість в моделях логістичних регресій для кліматичних зон, ніж для континентів.

Ключові слова: *Wolbachia, Drosophila melanogaster, ендосимбіоз, кліматичні фактори.*

Вступ. *Wolbachia* є одними з найпоширеніших ендосимбіотичних бактерій, які інфікують велику кількість безхребетних і, головним чином, викликають модифікації статевого розмноження в своїх хазяїв (цитоплазматичну несумісність, перехід до партеногенезу, андродид

та фемінізацію) [1]. Крім того, бактерія може надавати адаптаційних переваг хазяїну, наприклад, захист від вірусів [2] та підвищення фекандильності [3].

Wolbachia присутня у популяціях *Drosophila melanogaster* всього світу, а частоти інфікування коливаються в діапазоні від 0 до 100 % [3–8]. У *D. melanogaster* симбіонт не викликає виражених негативних ефектів репродуктивної системи, проте може надавати адаптаційних переваг [9], які тим не менше не пояснюють коливання частот інфікування бактерією у популяціях даного виду.

Показано, що рівні інфікування різними симбіонтами безхребетних можуть залежати і від абіотичних чинників [10]. В контексті впливу кліматичних факторів для австралійських популяцій *D. melanogaster* з помірного клімату було показано, що *Wolbachia* справляє негативний вплив на дрозофілу після зимового репродуктивного стану спокою, оскільки знижується фекандильність інфікованих мух. Відповідно, інфікованість вища у представників тропічних регіонів у порівнянні з помірними широтами [8]. Вплив кліматичних факторів на рівні інфікування систематично не вивчався, тим паче, у світлі еволюції симбіотичної асоціації за поточних змін клімату. Оскільки саме штами, які інфікують дрозофіл, використовують у боротьбі з поширенням таких арбовірусних інфекцій, як Денге, при переінфікуванні комарів, є важливим вивчення механізмів формування рівнів інфікованості різних генотипів *Wolbachia* та факторів впливу на них у природі [11].

Спираючись на зв'язок інфікованості з широтою для популяцій тропічних регіонів Ав-

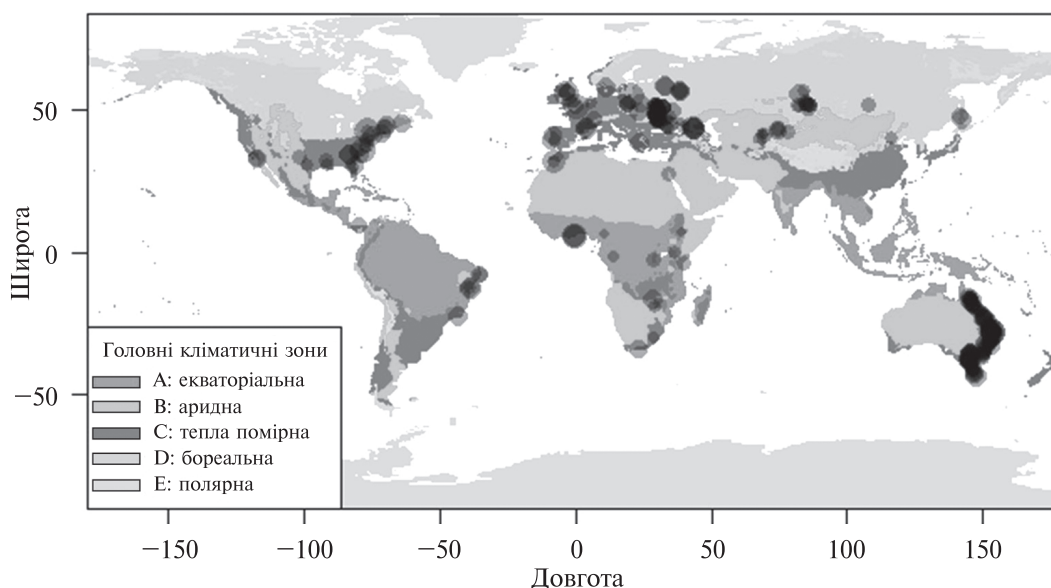


Рис. 1. Карта головних кліматичних зон згідно класифікації Кеппена-Гейгера та локалітетів, де було зібрано *D. melanogaster*. Розмір точки пропорційний $\log N$, де N – кількість ізосамкових ліній

стралії, Африки та Північної Америки [8], ми провели аналіз впливу річних та сезонних (зима, весна, літо) середніх значень температури, опадів, рівнів потенційної евапотранспірації на частоти інфікування *Wolbachia* дрозофіли як для окремих континентів, так і для різних кліматичних зон згідно класифікації Кеппена-Гейгера [12]. Першочерговою метою було визначити кліматичний вплив на інфікованість мух бореальної зони та Євразії в цілому, яка характеризується значною міжсезонною різницею кліматичних параметрів. Тому було здійснено збори більше десятка популяцій дрозофіл з Європи. Для з'ясування особливостей такого впливу у всьому світі наші дані були поєднані з результатами інших авторів.

Матеріали та методи. Збір особин *D. melanogaster* у природі. Особини *D. melanogaster* були зібрані у літньо-осінній період 2012–2015 рр. з локалітетів Європи (вказано місяць та рік збору): м. Лозанна 2012 (Швейцарія, 46°56'7.00"N, 6°70'2.00"E), с. Бжезіна 08/2015 та 10/2015 (Польща, 51°48'0.00"N, 19°45'0.00"E), м. Брест 2015 (Білорусь, 52°08'0.00"N, 23°40'0.00"E). Україна: м. Одеса 05/2013, 06/2013, 09/2013, 10/2013 та 11/2013 (46°29'13.91"N, 30°43'51.59"E), Чорнобильська зона відчуження (Водойма-охолоджувач ЧАЕС 09/2015 (51°22'23.9"N, 30°08'17.9"E),

м. Чорнобиль 08/2015 (51°16'21.5"N, 30°13'16.9"E), Янів 08/2015 (51°23'12.9"N, 30°04'23.9"E), с. Копачі 2015 (51°35'18.54"N, 30°12'59.88"E)), м. Умань 10/2017 (48°45'45.26"N, 30°14'38.97"E), м. Умань К 10/2016 та 09/2017 (48°76'0.00"N, 30°17'0.00"E). Було започатковано ізосамкові лінії мух для кожної популяції. Утримання лінії здійснювалося за умов 25 ± 1 °C та 70–80 % відносної вологості з використанням стандартного манно-агарозного середовища з дріжджами (6 г агар, 15 г дріжджі, 50 г цукру, 55 г, 1 л води). У якості фунгіциду застосовували пропіонову кислоту (4 мл пропіонової кислоти на 1 л середовища).

Ідентифікація *Wolbachia*. 10–12 імаго кожної ізосамкової лінії були використані для виділення тотальної ДНК за допомогою методу висолування. Наявність ендосимбіонта визначали за допомогою методу ПЛР з використанням наборів праймерів до генів *16S rRNA* [13] та *wsp* [14] *Wolbachia*. Візуалізація продуктів ПЛР проводилася в 2%-ному агарозному гелі.

Рівень інфікованості (або частота інфікованості) визначався як відношення інфікованих ізосамкових ліній до загального числа проаналізованих ліній. Для частот інфікованості було визначено довірчий інтервал Клопера-Пірсона. Отримані рівні інфікованості порівнювали між

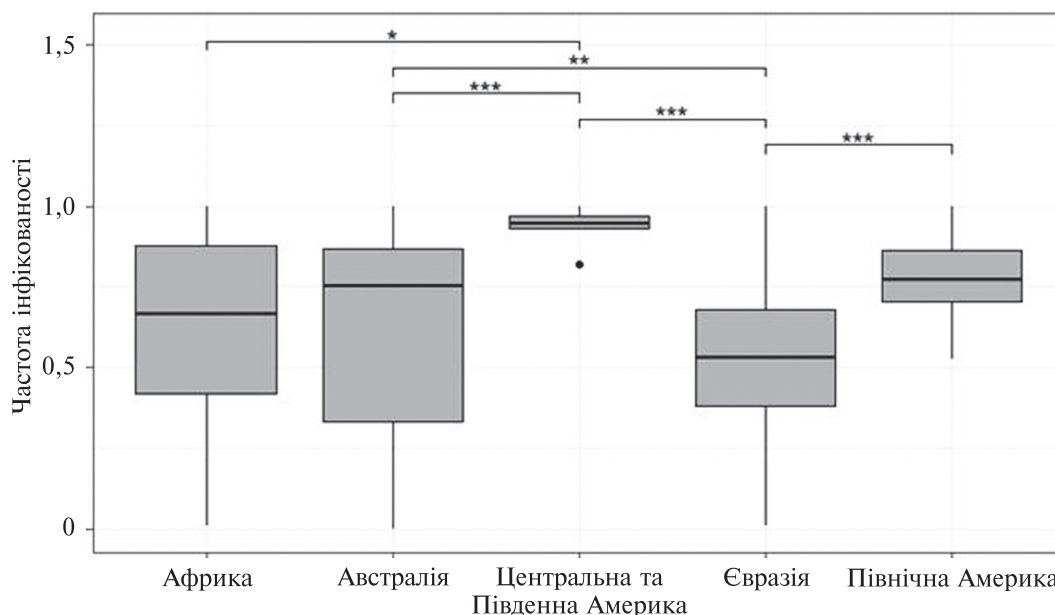


Рис. 2. Графік значення критерію плюс-мінус відхилення розподілу частот інфікованості *Wolbachia* по континентах (тест Крускал-Уоліса: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

континентами, а також між кліматичними зонами за допомогою тесту Крускал-Уоліса у R v. 3.5.0 [15].

Локалітети зборів *D. melanogaster*. Власні результати були поєднані з нашими попередніми даними [3, 16–18], а також з даними інших авторів [4, 6–8, 19–27].

Залучені у дослідження популяції були зібрані в різні роки: 1984, 1987–1993, 1995, 2000–2001, 2003–2005, 2007–2017. При обранні популяцій для дослідження керувалися наступним критерієм: N (кількість ізосамкових ліній) ≥ 8 . Детальна інформація про частоту інфікованості, координати локалітетів, сезон збору знаходиться в Додатку. Всього проаналізовано 280 популяцій (10806 ізосамкових ліній). Дані інфікованості Центральної (тільки Панама) та Південної Америки згруповані разом, оскільки більшість точок знаходиться в екваторіальній зоні (рис. 1).

Аналіз впливу кліматичних факторів на частоту інфікування. Кліматичні дані були отримані з бази даних Climatic Research Unit (CRU) Time-Series (TS) v. 4.02. У первинному вигляді дані представлені у стиснутому графічному форматі NetCDF (Network Common Data Form), значення яких представлені через координатну прив'язку (gridded climate dataset) [28].

В аналіз були залучені середні річні та сезонні показники температури повітря, °C (mean temperature – TMP) та загальна кількість опадів, мм (precipitation total – PRE), які були розраховані з середніх місячних кліматичних показників. Також було взято вторинний показник, який є їх похідним: потенційна евапотранспірація, мм (potential evapotranspiration – PET), що характеризує рівень посушливості.

Отримання значень з NetCDF файлів для різних кліматичних змінних відповідних географічних координат локалітетів, де були зібрані мухи, було здійснено з використанням R v. 3.5.0 [15] за допомогою пакетів *raster* [29] та *ncdf4* [30]. Для визначення впливу кліматичних факторів на рівні інфікованості використали логістичну регресію з біноміальним розподілом в R v. 3.5.0 [15].

Результати досліджень. Рівні інфікованості *Wolbachia* та кліматичні фактори для популяцій *D. melanogaster* окремих континентів. У роботі проаналізовано 491 ізосамкова лінія, зібраних в досліджуваних локалітетах Європи здебільшого в літньо-осінній період, наприкінці репродуктивного сезону (рис. 1). Для більшості частот значення інфікування *Wolbachia* становило $< 0,5$ (для 10 з 16). Максимальна інфіко-

ваність спостерігалася у популяції м. Лозанни 2012 – 0,93 (0,779–0,992), мінімальна у м. Умань К 10/2016 – 0,101 (0,046–0,216) (хоча у м. Умань К 09/2017 – 0,545 (0,364–0,719) та м. Умань 10/2017 – 0,379 (0,207–0,577)). У популяціях м. Бжезіни 08/2015 – 0,545 (0,364–0,719), 10/2015 – 0,324 (0,174–0,505) та м. Бресту 2015 – 0,359 (0,212–0,528). Для популяції м. Одеси спостерігалася зниження частоти інфікованості протягом репродуктивного сезону: 05/2013 – 0,657 (0,478–0,809); 06/2013 – 0,45 (0,293–0,615); 09/2013 – 0,5 (0,157–0,843); 10/2013 – 0,273 (0,123–0,459); 11/2013 – 0,273 (0,126–0,511). У популяціях Чорнобильської зони відчуження рівні інфікованості були низькими: с. Копачі 2015 – 0,24 (0,093–0,451); Водойма-охолоджувач ЧАЕС 09/2015 – 0,261 (0,102–0,484); м. Чорнобиль 08/2015 – 0,261 (0,102–0,484); Янів 08/2015 – 0,267 (0,123–0,459).

Встановлено, що найвищі рівні інфікованості притаманні популяціям Центральної та Південної Америки. По Євразії не врахову-

вали популяції Шарм-ель-Шейх, п-ов Сінай, оскільки дані по інфікуванню відрізняються від загальної вибірки. Відповідно, левова частка проаналізованих популяцій Євразії походить з бореального та теплого помірного кліматів. З використанням тесту Крускал-Уоліса показано, що рівні інфікованості популяцій Африки, Австралії та Євразії відрізняються від таких у Центральній та Південній Америці ($p < 0,05$). А також рівні інфікованості Євразії нижчі від таких у популяціях Австралії та Північної Америки ($p < 0,05$).

Згідно логістичної регресії кліматичні параметри спричиняють вплив на частоту інфікованості (в середньому $p < 0,05$) зі слабким позитивним зв'язком (в середньому $b < 0,02$) загалом на всіх континентах. При цьому модель впливу кількості опадів на рівень інфікування є статистично найкращою, у порівнянні з іншими моделями (AICc найнижчий). Результати логістичної регресії впливу середніх річних значень кліматичних параметрів на частоту інфі-

Таблиця 1. Вплив значень середньорічних кліматичних факторів на частоту інфікованості *Wolbachia* на різних континентах

Набір даних: N ¹	Кліматичний параметр	Середнє значення кл. пар.	AIC ²	b ³	p
Всі континенти: 10806	TMP	14,5 °C	5106	0,015585	1,49 × 10⁻⁸
	PRE	77,65 мм	4772,7	0,0110111	2 × 10⁻¹⁶
	PET	9,98 мм	5133,4	0,0018875	0,0303
Африка: 836	TMP	21,5 °C	289,08	-0,27319	2 × 10⁻¹⁶
	PRE	90 мм	477,23	-0,016303	1,33 × 10⁻¹⁰
	PET	6,4 мм	504,99	0,02701	7,85 × 10⁻⁵
Австралія: 4136	TMP	19 °C	1382,9	0,35469	2 × 10⁻¹⁶
	PRE	95,61 мм	2062,2	0,020308	2 × 10⁻¹⁶
	PET	20 мм	2486,9	0,0012469	0,174
Центральна та Південна Америка: 330	TMP	25,5 °C	27,915	-0,4265	0,206
	PRE	135 мм	24,529	-0,02761	0,0167
	PET	3,49 мм	26,097	-1,6644	0,05781
Євразія: 4327	TMP	8,4 °C	1299	-0,039879	4,55 × 10⁻⁸
	PRE	50,91 мм	1280	0,012092	4,00 × 10⁻¹²
	PET	2,21 мм	1322,3	-0,1684	0,008413
Північна Америка: 1177	TMP	15 °C	180,48	-0,01334	0,337
	PRE	97,4 мм	158,24	-0,010782	4,44 × 10⁻⁶
	PET	3,1 мм	180,03	0,1213	0,2418

Примітка. ¹ кількість ізосамкових ліній; ² інформаційний критерій Акаїке; ³ коефіцієнт логістичної функції; ⁴ жирним виділено статистично значущі результати ($p < 0,05$).

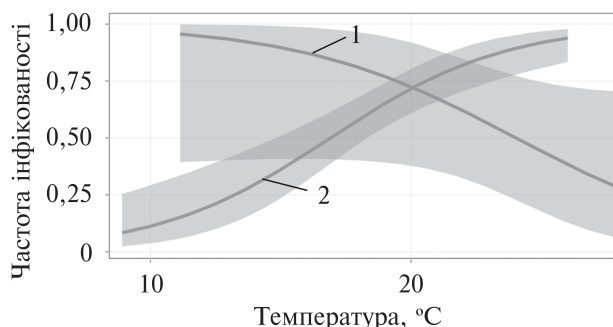


Рис. 3. Логістичні регресійні моделі впливу середніх річних значень температури на інфікованість дрозофіл *Wolbachia* Африки (1) та Австралії (2) з 95 % довірчим інтервалом (позначений сірим) за досліджувані періоди часу

кованості популяцій в досліджувані періоди для окремих континентів представлені в табл. 1.

Рівні інфікованості популяцій різних континентів виявились чутливими до різних комбінацій досліджуваних факторів. Так, для Африки та Євразії встановлено вплив всіх факторів

на частоти інфікованості, тоді як для Америки – тільки слабкий вплив кількості опадів. Для Африки та Австралії температура виявилась головним фактором впливу. Проте для Африки температура мала негативний ($b = -0,27$, $p = 2 \times 10^{-16}$, АІС найнижчий), а для Австралії – позитивний ($b = 0,35469$, $p = 2 \times 10^{-16}$, АІС найнижчий) впливи (рис. 3).

Для Центральної та Південної Америки було виявлено слабкий негативний вплив рівнів інфікованості популяцій з кількістю опадів ($b = -0,02761$, $p = 0,0167$, АІС найнижчий), які мають найвищі показники серед усіх континентів. Також тут спостерігаються найвищі рівні інфікованості. Для Євразії показано вплив всіх факторів, найсильнішим з яких були опади зі слабким позитивним впливом ($b = 0,012092$, $p = 4,00 \times 10^{-12}$, АІС найнижчий). Для Північної Америки, навпаки, спостерігався тільки слабкий негативний зв'язок з даним фактором ($b = -0,010782$, $p = 4,44 \times 10^{-6}$, АІС найнижчий).

Таблиця 2. Вплив кліматичних факторів кожного сезону на частоту інфікованості *Wolbachia* дрозофіл Євразії та Північної Америки

Набір даних: N	Кліматичний параметр	Середнє значення кл. пар.	АІС	<i>b</i>	<i>p</i>
Євразія: 2752					
зима	TMP	-1,7 °C	880,12	-0,033115	$6,44 \times 10^{-7}$
	PRE	48,81 мм	902,3	0,003362	0,0814
	PET	0,412 мм	904,11	-0,13182	0,2664
весна	TMP	9,8 °C	864,75	-0,06661	$4,44 \times 10^{-10}$
	PRE	47,27 мм	890,7	0,006247	0,000143
	PET	2,583 мм	880,17	-0,4302	$6,03 \times 10^{-7}$
літо	TMP	20,2 °C	872,93	-0,05932	$1,65 \times 10^{-8}$
	PRE	58,266 мм	792,96	0,016209	2×10^{-16}
	PET	4,421 мм	889,11	-0,16425	$5,94 \times 10^{-5}$
Північна Америка: 953					
зима	TMP	4,871 °C	130,55	0,01150	0,285
	PRE	80,61 мм	130,08	-0,002939	0,202
	PET	1,7015 мм	130,89	0,1042	0,371
весна	TMP	14,4 °C	131,59	0,004816	0,739
	PRE	94,31 мм	116,93	-0,007964	0,000216
	PET	3,44 мм	129,75	0,13152	0,1673
літо	TMP	24,3 °C	131,29	-0,01229	0,52137
	PRE	105,86 мм	131,39	-0,0009646	0,581
	PET	4,65 мм	131,57	0,03261	0,7216

Примітка. Жирним виділено статистично значущі результати ($p < 0,05$).

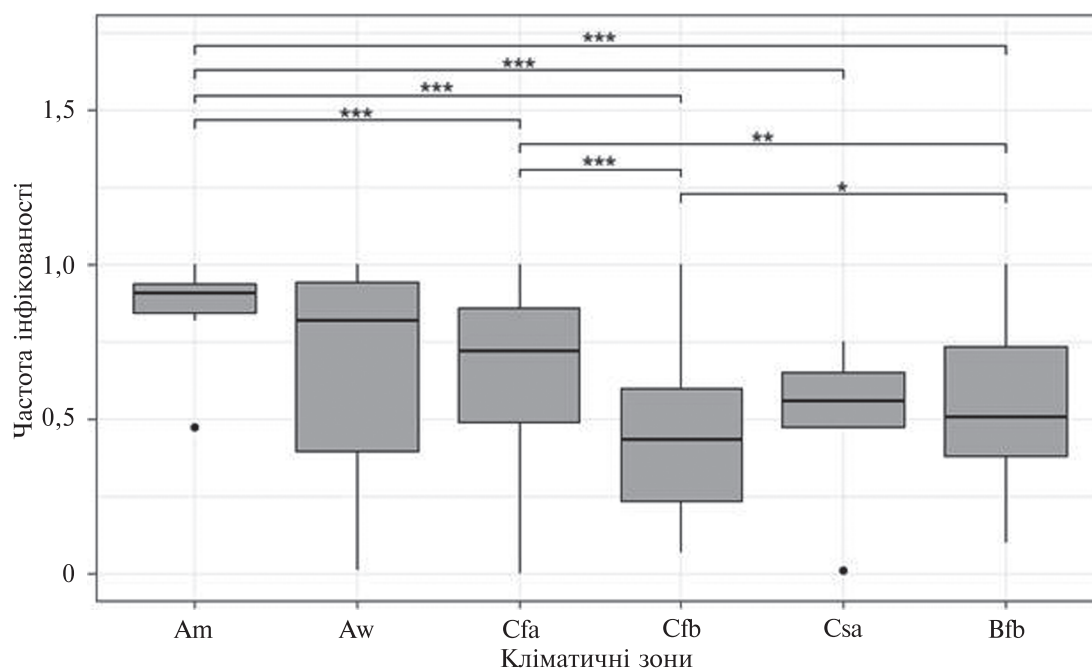


Рис. 4. Графік значення критерію плюс-мінус відхилення розподілу частот інфікованості дрозозфіл *Wolbachia* для кліматичних зон. А – екваторіальні зони; С – теплі помірні; D – бореальна. Малі літери характеризують особливості клімату: a – жарке літо; b – тепле літо; f – висока вологість; m – наявність мусонних сезонів; s – сухе літо; w – суха зима (згідно кліматичної класифікації Кеппен-Гейгера)

Сезонний вплив кліматичних факторів на частоти інфікованості *Wolbachia* популяцій дрозозфіли Євразії та Північної Америки. Якщо для більшості континентів спостерігаються незначні річні коливання кліматичних факторів у зв'язку з тропічним чи екваторіальним розташуванням, то Євразії та Північній Америці притаманна суттєвіша мінливість температури протягом року, що і відповідає переважанню тут таких кліматичних зон, як теплої помірної та бореальної. Спираючись на ці факти, було проведено аналіз впливу кліматичних параметрів трьох сезонів року (зима, весна та літо; осінь не взято до уваги у зв'язку з переважаючими зборами популяцій перших двох місяців сезону) на інфікованість *Wolbachia* літньо-осіннього періоду для Євразії та Північної Америки (табл. 2). В табл. 2 значення кількості ізосамкових ліній для континентів відрізняються від наведених у таблиці 1, оскільки не для всіх популяцій були відомі дані зборів з приводу сезонів.

Також варто зазначити, що для Євразії було виявлено клінальну залежність з широтою ($b = 0,01237$, $p = 0,0405$), раніше для якої

цього не спостерігалось [8], можливо, через недостатню кількість даних за рівнями інфікованості.

Загалом встановлено вплив на рівні інфікованості *Wolbachia* температури, кількості опадів та рівня потенційної евапотранспірації влітку та навесні для Євразії і тільки кількості опадів весною для Північної Америки. Варто відмітити, що кількість опадів має незначний вплив на зміну інфікованості для Північної Америки ($b = -0,007964$, $p = 0,000216$). Також, як свідчать дані таблиці 2, кліматичні умови Північної Америки є більш м'якими з вищими рівнями опадів у порівнянні з Євразією.

Для Євразії найбільшу вагомість серед кліматичних факторів літа має вплив опадів, модель якого була найкращою (найнижчий АІС). Однак, найбільш помітний негативний вплив на частоту інфікованості *Wolbachia* має рівень потенційної евапотранспірації ($b = -0,16425$).

Рівні інфікованості дрозозфіл *Wolbachia* та кліматичні фактори по окремих кліматичних зонах. Серед досліджуваних кліматичних зон найкраще репрезентовані вибірки популяцій з

екваторіальної (Am, Aw), теплої помірної (Cfa, Cfb, Csa) та бореальної (Dfb).

Тест Крускал-Уоліса засвідчив, що рівень інфікованості дрозofil Am зони відрізняється від такого зон Cfa, Cfb, Csa та Dfb ($p < 0,05$). А також показники в зоні Cfa вищі за такі в Cfb та Dfb ($p < 0,05$), та Cfb відрізняється від Dfb ($p < 0,05$) (рис. 4). Вищі рівні інфікованості для тропічних кліматичних зон відповідають результатам, отриманим Kriesner et al., 2016 [8].

Результати логістичної регресії впливу середньорічних значень кліматичних факторів на інфікованість дрозofil *Wolbachia* для різних кліматичних зон показали, що є сильнішим між рівнем інфікованості та кліматичними факторами саме для кліматичних зон, а не континентів (табл. 3). Останнє підтверджує вплив клімату незалежно від географічного положення регіону.

Кліматична зона з найнижчими показником середнього значення температури – екваторіальна Aw, має сильний негативний вплив температури на рівні інфікованості, коли для Am, навпаки, позитивний (моделі з найнижчим AIC) (рис. 5).

Cfb та Dfb зони з найнижчими показниками температур серед усіх континентів мають негативний вплив даного фактору на рівні інфікованості дрозofil *Wolbachia*.

Для бореальної кліматичної зони (Dfb) континенту Євразії (найбільша кількість популяцій в цій зоні літньо-осінніх зборів: 38 популяцій (1270 ізосамкових ліній)) було проведено аналіз впливу факторів по сезонам (рис. 6). Статистично значущий вплив виявлено для всіх факторів кожного сезону. Найкращою (AIC = 257,64) визначено модель впливу температури взимку на рівні інфікованості ($b = -0,25697$, $p = 2,00 \times 10^{-16}$). Характерною рисою Dfb зони є негативний вплив температури на інфікованість для кожного сезону. Весною на інфікованість має сильний негативний вплив рівень потенційної евапотранспірації ($b = -1,4083$, $p = 6,95 \times 10^{-8}$, AIC = 313,17), влітку – позитивний вплив кількість опадів ($b = 0,031959$, $p = 4,6 \times 10^{-14}$, AIC = 283,21).

Результати аналізу Dfb зони Євразії свідчать про відмінність впливів кліматичних факторів холодних умов бореальної кліматичної зони, на відміну від решти зон, на рівні інфікова-

Таблиця 3. Вплив кліматичних факторів на частоту інфікованості дрозofil *Wolbachia* для кліматичних зон

Набір даних: N	Кліматичний параметр	Середнє значення кл. пар.	AIC	<i>b</i>	<i>p</i>
Am: 406	TMP	24 °C	67,493	0,3530	0,0151
	PRE	144,9 мм	73,302	0,002132	0,6556
	PET	4,27 мм	73,312	0,2742	0,661
Aw: 671	TMP	25 °C	97,061	-1,09899	2×10^{-16}
	PRE	107,78 мм	603,69	-0,004688	0,249
	PET	3,8 мм	518,63	1,6275	2×10^{-16}
Cfa: 3460	TMP	12 °C	1321,2	0,22056	2×10^{-16}
	PRE	41,74 мм	1512,9	0,011869	2×10^{-16}
	PET	2,7 мм	1650,7	0,0001422	0,886
Cfb: 2211	TMP	10 °C	883,77	-0,16850	2×10^{-16}
	PRE	70,96 мм	935,76	0,022143	$2,19 \times 10^{-14}$
	PET	2,21 мм	992,22	0,005015	0,0184
Csa: 359	TMP	14,6 °C	53,606	0,14424	0,0137
	PRE	29,59 мм	52,846	-0,019686	0,01081
	PET	3,5 мм	53,3	1,1958	0,0127
Dfb: 2119	TMP	8 °C	584,28	-0,11095	$3,17 \times 10^{-8}$
	PRE	49,33 мм	549,18	0,021332	$6,87 \times 10^{-15}$
	PET	2,1 мм	600,04	-0,7707	$5,96 \times 10^{-5}$

Примітка. Жирним виділено статистично значущі результати ($p < 0,05$).

ності. Нижча температура, наприклад, взимку сприяє вищому рівню інфікованості наприкінці репродуктивного сезону.

Обговорення. Проведений аналіз дозволив вперше встановити вплив середніх значень температури повітря, загального рівня опадів та рівня потенційної евапотранспірації на частоти інфікованості *Wolbachia* досліджених представників природних популяцій *D. melanogaster* світу.

Дослідження впливу клімату на інфікованість ендосимбіонтом набуло актуальності впродовж останніх років. Charlseworth et al., 2018 р. продемонстрували слабкий негативний вплив температури на поширення *Wolbachia* серед *Mandibulata* в тропічних регіонах і навпаки позитивний для помірних кліматичних умов [31]. *Wolbachia* серед тропічних популяцій *D. melanogaster* Австралії та частини Північної Америки мають вищі рівні інфікованості, ніж в таких з помірних широт [8]. Наш результат відповідає вищезгаданым роботам. Аналіз з урахуванням різних кліматичних зон дав можливість виділити різнонаправлені тренди при помітно відмінних кліматичних умовах в межах помірних та тропічних широт. Більше того, інфікованість має не тільки вищі показники в тропічних зонах, а також різну відповідь на температуру в залежності від ступеню сухості клімату. Так, для екваторіальної зони Aw, для якої характерна суха зима, інфікованість має негативний зв'язок з температурою. Тоді коли для мусонної Am, яка характеризується значною кількістю опадів, — позитивний. Це свідчить на користь комплексного впливу режимів зволоження та температур на частоту інфікованості дрозозфіли *Wolbachia*.

Варто зазначити, що одні і ті ж кліматичні фактори по-різному впливають на рівні інфікованості дрозозфіли *Wolbachia* як в контексті різних континентів, так і кліматичних зон. Наприклад, для Африки та Австралії спостерігається неконгруентність впливу температури на рівні інфікованості: дві криві по континентах перетинаються в точці ~ 20 °C, а саме рівні інфікованості по Австралії зростають, а по Африці знижуються в залежності від середньої температури (рис. 2). Схожа картина характерна і для екваторіальних зон Aw та Am (рис. 6) (криві перетинаються в точці ~ 24 °C), що може бути

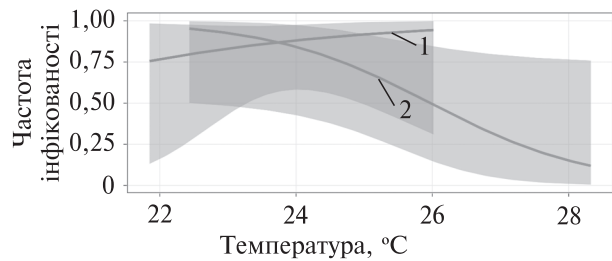


Рис. 5. Логістичні регресійні моделі впливу середніх річних значень температури на рівні інфікованості дрозозфіли *Wolbachia* екваторіальних кліматичних зон Am (1) та Aw (2) з 95% довірчим інтервалом (позначено сірим) за досліджувані періоди часу

наслідком поширення різних генотипів в природних популяціях дрозозфіли цих територій. В лабораторних умовах показано, що мухи, яких зібрано в теплому, сухому кліматі (28 та 32 °C), мають більше нащадків, ніж ті, які зібрані в холодному та вологому (14 та 19 °C) [32].

Частоти інфікованості дрозозфіли *Wolbachia* мають більш виражену асоціацію з кліматичними зонами, ніж з суто географічним розташуванням, що може свідчити, про значну міру впливу клімату на частоту інфікованості дрозозфіли *Wolbachia* у порівнянні з географічним фактором поширення. Проте на результат може вплинути нерівномірний розподіл точок по континентах, та подальші дослідження покажуть чи спостерігається дана тенденція при залученні більшої кількості даних.

Показано, що інфікованість набуває максимальних значень за середньорічної температури ~ 22 – 26 °C (рис. 3, 5). Такий результат відповідає дослідженню Truitt et al. 2018 р., які показали, що інфіковані імаго в нормі віддають перевагу середній температурі 23,2 °C (*wMel* генотип, який є найпоширенішим у природі), на відміну від неінфікованих — 24,4 °C [33]. Отриманий результат свідчить, що рівень інфікованості *Wolbachia* суттєво залежить від температури і така залежність може мати складніший характер в помірній кліматичній зоні, у порівнянні з зонами тропічних широт, де мінімальне значення температури рідко опускається нижче 18 °C.

Відносно нижчі рівні інфікованості в деяких теплих помірних зонах та бореальній у порівнянні з тропічними можуть бути наслідком проходження репродуктивного стану спокою взимку, після якого інфіковані мухи характе-

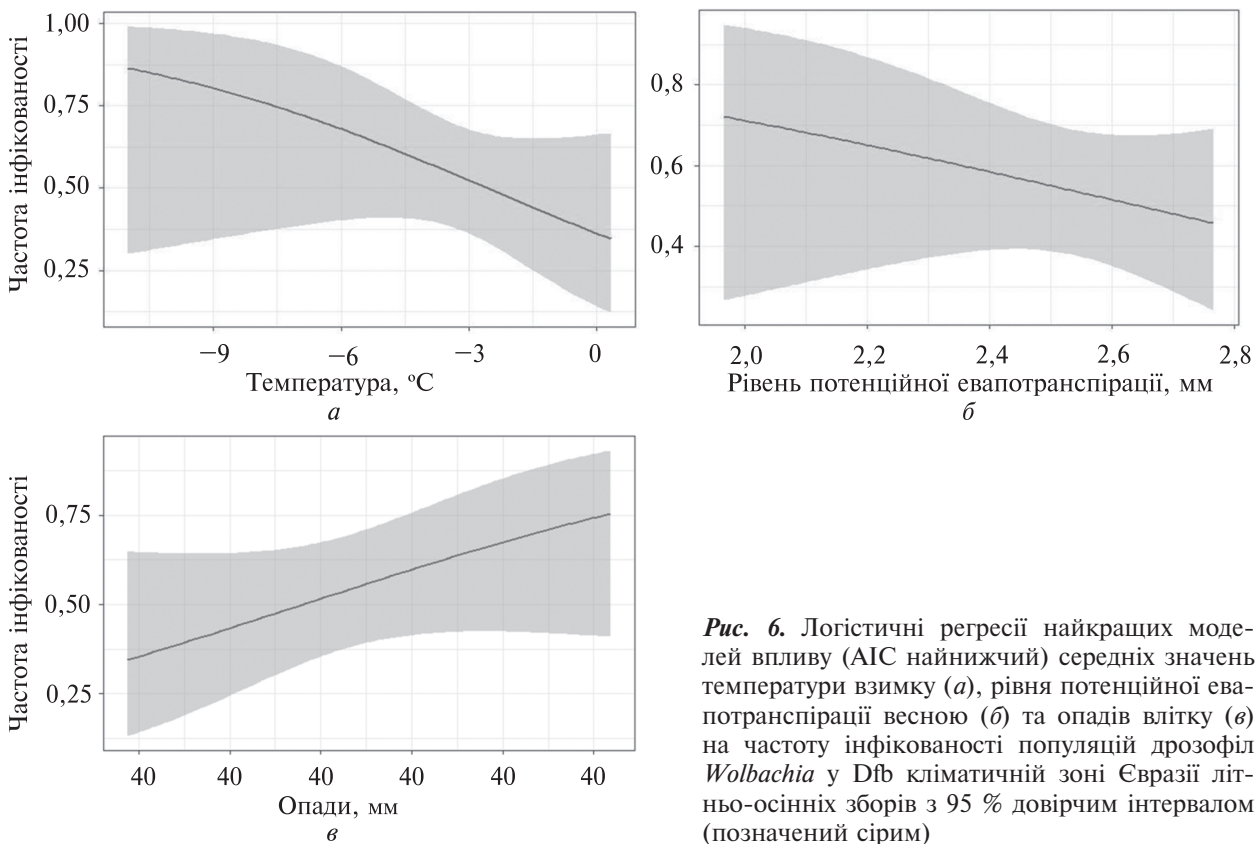


Рис. 6. Логістичні регресії найкращих моделей впливу (AIC найнижчий) середніх значень температури взимку (а), рівня потенційної евапотранспірації весною (б) та опадів влітку (в) на частоту інфікованості популяцій дрозофіл *Wolbachia* у Dfb кліматичній зоні Євразії літньо-осінніх зборів з 95 % довірчим інтервалом (позначений сірим)

ризуються нижчим рівнем фекандильності [8]. Негативний вплив, репродуктивного спокою чи діапаузи, включно до втрати інфекції ендосимбіонтом, було показано на прикладі паразитичних ос [34, 35] та комарів *Aedes albopictus* [36]. Не дивлячись на це, середні рівні інфікованості для цих кліматичних зон та таких континентів, де ці кліматичні зони є домінуючими (Євразія та Північна Америка), залишаються високими (~ 50 %) та мають широкі межі поліморфізму щодо рівнів інфікованості (рис. 2, 4). А також існування найсильнішого негативного впливу саме температури зими серед усіх факторів на інфікованість наприкінці репродуктивного періоду на території бореального клімату Євразії свідчить про адаптивні ефекти бактерії для інфікованих мух. Відповідно, високі рівні інфікованості та їх поліморфізм в бореальній зоні ще раз свідчить про домінування *Wolbachia* у природних популяціях *D. melanogaster* та існування невизначеної остаточно адаптаційної переваги ендосимбіонта [9].

Як відомо, носії різних генотипів *Wolbachia*, wMelCS та wMel, віддають перевагу різним температурним режимам [33]. Наприклад, мухи, інфіковані wMelCS, віддають перевагу нижчим температурам, у порівнянні з інфікованими wMel. Також беручи до уваги генетичну різноманітність гаплотипів дрозофіл Євразії [37] та географічний розподіл клад [38], можна припустити внесок генетичної структури у встановлення частот інфікування дрозофіл *Wolbachia* в контексті кліматичної мінливості.

Дане дослідження також є важливим в рамках стратегії біоконтролю поширення таких арбовірусних інфекцій як Денге, Зіка та Чікугунья [11]. Майбутнє дослідження генетичної структури популяцій *Wolbachia* і її зв'язку з абіотичними факторами тих чи інших клімато-географічних зон, може дати уявлення про конкретні сприятливі локальні умови успішного крос-інфікування комарів-переносників тропічних інфекцій, які, як відомо, стають проблемою і в помірних широтах внаслідок швидких кліма-

тичних змін за глобального потепління.

Отже, становлення частот інфікування дрозофіл *Wolbachia* має складний характер у відповідності впливу кліматичних умов ареалів поширення *D. melanogaster*. При цьому важливу роль відіграє багатофакторність клімату, а не тільки температура, яка часто є єдиним досліджуваним фактором в аналогічних роботах.

Ми дякуємо Павлу Коваленку, студенту Київського національного університету імені Тараса Шевченка, та Олексію Білоусову, науковому співробітнику Колумбійського університету, за допомогу у зборах мух з Умані і Лозанни, відповідно.

Дотримання етичних стандартів. Ця стаття не містить будь-яких досліджень за участю людей в якості об'єктів досліджень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ в державному, комерційному або некомерційному секторах.

CLIMATE FACTORS AND *WOLBACHIA* INFECTION FREQUENCIES IN NATURAL POPULATIONS OF *DROSOPHILA MELANOGASTER*

N.V. Gora, S.V. Serga, O.M. Maistrenko,
A. Slezak-Parnikoza, I.Y. Parnikoza, A.N. Tarasiuk,
S.V. Demydov, I.A. Kozerevska

Taras Shevchenko National University of Kyiv, Ukraine, Kyiv, 01601, Volodymyrska street, 60
European Molecular Biology Laboratory, Germany, Heidelberg, 69117, Meyerhofstrasse, 1
Local group for Wolf protection on Elbląg Upland, Poland, Warmian-Masurian Voivodeship, 82-340, Tolkmicko, Brzezina, 2a
State Institution National Antarctic Scientific Center, MES of Ukraine, Ukraine, Kyiv, 01601, Taras Shevchenko boulevard, 16
Brest State A.S. Pushkin University, Republic of Belarus, Brest, 224016, Cosmonautov boulevard, 21
E-mail: nazaragora@gmail.com

The endosymbiotic bacteria *Wolbachia* are widespread in the natural populations of *Drosophila melanogaster*, a cosmopolitan and synanthropic species. Various aspects of *Wolbachia* infection are studied in many arthropod species including fruit fly. However, the influence of climatic factors on the level of *Wolbachia* infection in natural populations of fruit fly has not

been studied in detail. We investigated the influence of mean temperature, precipitation, and potential evaporation on *Wolbachia* infection rates in the *D. melanogaster* populations. We combined newly obtained estimates of *Wolbachia* infection rates for 10 *D. melanogaster* populations of Europe with the data from other articles for different continents from different climatic zones (280 populations – 10,806 isofemale lines). The influence of climatic factors on the infection frequency was established. The highest infection rates are observed in the range of 20–25 °C mean annual temperature, which corresponds to rearing conditions of the flies in the laboratory. Cline of *Wolbachia* infection rates in the Eurasian fruit fly populations was found. Also, climatic factors have a more significant impact on bacterial infection rates in logistic regression models for climatic zones than for continents.

КЛИМАТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ И ЧАСТОТЫ ИНФИЦИРОВАНИЯ *WOLBACHIA* В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Н.В. Гора, С.В. Серга, А.Н. Майстренко,
А. Сьлензак-Парникоза, И.Ю. Парникоза,
А.Н. Тарасюк, С.В. Демидов, И.А. Козерецкая

Эндосимбиотические бактерии *Wolbachia* широко распространены в природных популяциях *Drosophila melanogaster*, которая является космополитическим и синантропным видом. Различные аспекты инфицирования *Wolbachia* активно изучаются у артропод, включая дрозофилу. Однако, влияние климатических факторов на уровни инфицированности *Wolbachia* в природных популяциях дрозофилы исследовано недостаточно. В работе проведен анализ влияния средних значений температуры, количества осадков и уровня испарения на частоты инфицированности *Wolbachia* в исследуемых нами 10 популяциях *D. melanogaster* (собраны в Европе) вместе с данными из работ других авторов как для различных континентов, так и для климатических зон (280 популяций – 10806 изосамковых линий). Показано наличие влияния климатических факторов на частоту инфицирования *Wolbachia*. Наиболее высокие уровни инфицирования наблюдаются в диапазоне 20–25 °C средней годовой температуры, что соответствует условиям содержания мух в лаборатории. Описано клинальное распределение уровней инфицирования *Wolbachia* в Евразийских популяциях дрозофилы. Также климатические факторы имеют более сильное влияние на частоту инфицирования *Wolbachia* в моделях логистических регрессий для климатических зон, в сравнении с таковыми континентов.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. O'Neill, S.L., Werren, J.H., and Hoffmann, A.A., Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction, *Oxford University Press*, 1997.
2. Teixeira, L., Ferreira, B. and Ashburner, M., The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*, *PLoS Biol*, 2008, vol. 6, no. 12, pp. e1000002.
3. Serga, S., Maistrenko, O., Rozhok, A., Mousseau, T., and Kozeretska, I., Fecundity as one of possible factors contributing to the dominance of the wMel genotype of *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Symbiosis*, 2014, vol. 63, no. 1, pp. 11–7.
4. Hoffmann, A.A., Clancy, D.J., and Merton, E., Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 1994, vol. 136, no. 3, pp. 993–9.
5. Riegler, M., Sidhu, M., Miller, W.J., and O'Neill, S.L., Evidence for a global *Wolbachia* replacement in *Drosophila melanogaster*, *Curr. Biol.*, 2005, vol. 15, no. 15, pp. 1428–33.
6. Ilinsky, Y.Y., Zakharov, I.K., The endosymbiont *Wolbachia* in Eurasian populations of *Drosophila melanogaster*, *Russ. J. Genet.*, 2007, vol. 43, no. 7, pp. 748–56.
7. Richardson, M.F., Weinert, L.A., Welch, J.J., Linheiro, R.S., Magwire, M.M., Jiggins, F.M., and Bergman, C.M., Population genomics of the *Wolbachia* endosymbiont in *Drosophila melanogaster*, *PLoS Genetics*, 2012, vol. 8, no. 12, pp. e1003129.
8. Kriesner, P., Conner, W.R., Weeks, A.R., Turelli, M., and Hoffmann, A.A., Persistence of a *Wolbachia* infection frequency cline in *Drosophila melanogaster* and the possible role of reproductive dormancy, *Evolution*, 2016, vol. 70, no. 5, pp. 979–97.
9. Serga, S.V., Kozeretskaya, I.A., The puzzle of *Wolbachia* spreading out through natural populations of *Drosophila melanogaster*, *Zhurnal obshchey biologii*, 2013, vol. 74, no. 2, pp. 99–111. (Russian).
10. Corbin, C., Heyworth, E.R., Ferrari, J., and Hurst, G.D., Heritable symbionts in a world of varying temperature, *Heredity*, 2017, vol. 118, no. 1, p. 10–20.
11. Iturbe-Ormaetxe, I., Walker, T., and O'Neill, S.L., *Wolbachia* and the biological control of mosquito-borne disease, *EMBO Rep*, 2011, vol. 12, no. 6, pp. 508–18.
12. Rubel, F., Brugger, K., Haslinger, K., and Auer, I., The climate of the European Alps: Shift of very high resolution Köppen–Geiger climate zones 1800–2100, *Meteorologische Zeitschrift*, 2017, vol. 26, no. 2, pp. 115–25. doi: 10.1127/metz/2016/0816.
13. O'Neill, S.L., Giordano, R., Colbert, A.M., Karr, T.L., and Robertson, H.M., 16S rRNA phylogenetic analysis of the bacterial endosymbionts associated with cytoplasmic incompatibility in insects, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1992, vol. 89, no. 7, pp. 2699–702.
14. Zhou, W., Rousset, F., and O'Neill, S., Phylogeny and PCR-based classification of *Wolbachia* strains using *wsp* gene sequences, *Proc. Royal Soc. London. Series B: Biol. Sci.*, 1998, vol. 265, no. 1395, pp. 509–15.
15. Team, R.C., R: a language and environment for statistical computing, 2018.
16. Gora, N.V., Kostenko, N.D., Maistrenko, O.M., Serga, S.V., and Kozeretska, I.A., The lack of correlation between the level of radioactive contamination and infection with *Wolbachia* in natural populations of *Drosophila melanogaster* from Ukraine, *J. V.N. Karazin Kharkiv Nat. Un-y Series «Biology»*, 2016, vol. 26, pp. 60–4.
17. Gora, N.V., Serga, S.V., Maistrenko, O.M., Protsenko, O.V., and Kozeretska, I.A., The relationship of *Wolbachia* infection and different phenotypes in the *Drosophila melanogaster* natural populations from radioactively polluted and clear areas in Ukraine, *Visn. Ukr. Tov. Genet. Sel.*, 2018, vol. 16, no. 2, pp. 227–34.
18. Gora, N.V., Serga, S.V., Maistrenko, O.M., and Kozeretska, I.A., Dynamics of frequencies of *Wolbachia* genotypes in *Drosophila melanogaster* population from Uman' under influence of climate factors, *Microbiol. Biotechnol.*, 2019, vol. 1, pp. 6–15.
19. Hoffmann, A.A., Hercus, M., and Dagher, H., Population dynamics of the *Wolbachia* infection causing cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster*, *Genetics*, 1998, vol. 148, no. 1, pp. 221–31.
20. Montenegro, H., Solferini, V.N., Klaczko, L.B., and Hurst, G.D.D., Male-killing *Spiroplasma* naturally infecting *Drosophila melanogaster*, *Insect. Mol. Biol.*, 2005, vol. 14, no. 3, pp. 281–7.
21. 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, vol. 6, no. 10, pp. e26318.
22. Ventura, I.M., Martins, A.B., Lyra, M.L., Andrade, C.A., Carvalho, K.A., and Klaczko, L.B., *Spiroplasma* in *Drosophila melanogaster* populations: prevalence, male-killing, molecular identification, and no association with *Wolbachia*. *Microb. Ecol.*, 2012, vol. 64, no. 3, pp. 794–801.
23. Early, A.M., Clark, A.G., Monophyly of *Wolbachia pipientis* genomes within *Drosophila melanogaster*: geographic structuring, titre variation and host effects across five populations, *Mol. Ecol.*, 2013, vol. 22, no. 23, pp. 5765–78.

24. Huang, W., Massouras, A., Inoue, Y., Peiffer, J., Ramia, M., Tarone, A.M., and Magwire, M.M., Natural variation in genome architecture among 205 *Drosophila melanogaster* Genetic Reference Panel lines, *Genome Res.*, 2014, vol. 24, no. 7, pp. 1193–208.
25. Webster, C.L., Waldron, F.M., Robertson, S., Crowson, D., Ferrari, G., Quintana, J.F., and Lazzaro, B.P., The discovery, distribution, and evolution of viruses associated with *Drosophila melanogaster*, *PLOS Biol.*, 2015, vol. 13, no. 7, pp. e1002210.
26. Bykov, R.A., Yudina, M.A., Gruntenko, N.E., Zakharov, I.K., Voloshina, M.A., Melashchenko, E.S., and Ilinsky, Y.Y., Prevalence and genetic diversity of *Wolbachia* endosymbiont and mtDNA in Palearctic populations of *Drosophila melanogaster*, *BMC Evol. Biol.*, 2019, vol. 19, no. 1, p. 48.
27. Roshina, N., Symonenko, A., Kremntsova, A., Tsybul'ko, E.A., Alatortsev, V.E., Pasyukova, E.G., and Mukha, D., *Drosophila melanogaster* inhabiting northern regions of European Russia are infected with *Wolbachia* which adversely affects their life span, *Vavilov. J. Genet. Breed.*, 2018, vol. 22, no. 5, pp. 568–73.
28. Harris, I.P.D.J., Jones, P.D., Osborn, T.J., and Lister, D.H., Updated high-resolution grids of monthly climatic observations – the CRU TS3.10 Dataset, *Int. J. Climatol.*, 2014, vol. 34, no. 3, pp. 623–42.
29. Hijmans, R.J., raster: Geographic Data Analysis and Modeling, 2019.
30. Pierce D., ncd4: Interface to Unidata netCDF (Version 4 or Earlier) Format Data Files, 2019.
31. Charlesworth, J., Weinert, L.A., Araujo-Jnr, E.V., and Welch, J.J., *Wolbachia*, *Cardinium* and climate: an analysis of global data, *bioRxiv*, 2018, vol. 490284.
32. Dillon, M.E., Wang, G., Garrity, P.A., and Huey, R.B., Review: Thermal preference in *Drosophila*, *J. Therm. Biol.*, 2009, vol. 34, no. 3, pp. 109–19.
33. Truitt, A.M., Kapun, M., Kaur, R., and Miller, W.J., *Wolbachia* modifies thermal preference in *Drosophila melanogaster*, *Environ. Microbiol.*, 2018.
34. Perrot-Minnot, M.J., Guo, L.R., and Werren, J.H., Single and double infections with *Wolbachia* in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis* effects on compatibility, *Genetics*, vol. 143, no. 2, pp. 961–72.
35. Rahimi-Kaldehy, S., Ashouri, A., Bandani, A., and Tomioka, K., The effect of *Wolbachia* on diapause, fecundity, and clock gene expression in *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Dev. Genes Evol.*, 2017, vol. 227, no. 6, pp. 401–10.
36. Ruang-Areerate, T., Kittayapong, P., McGraw, E.A., Baimai, V., and O'Neill, S.L., *Wolbachia* replication and host cell division in *Aedes albopictus*, *Curr. Microbiol.*, 2004, vol. 49, no. 1, pp. 10–2.
37. Nunes, M.D., Nolte, V., and Schluttenner, C., Non-random *Wolbachia* infection status of *Drosophila melanogaster* strains with different mtDNA haplotypes. *Mol. Biol. Evol.*, 2008, vol. 25, no. 11, pp. 2493–8.
38. Ilinsky, Y., Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes, *PLoS One*, 2013, vol. 8, no. 1, pp. 1–11.

Надійшла в редакцію 15.07.19
Після доопрацювання 19.11.19
Прийнята до друку 18.05.20