

ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет

Кафедра цитологии и генетики

Институт цитологии и генетики СО РАН

Лаборатория генетики популяций

М. А. Юдина

Популяционный и филогенетический анализ
эндосимбиотической бактерии *Wolbachia*
у блох (Siphonaptera) Урала и Дальнего Востока

Научный руководитель:

к.б.н. Ю. Ю. Илинский

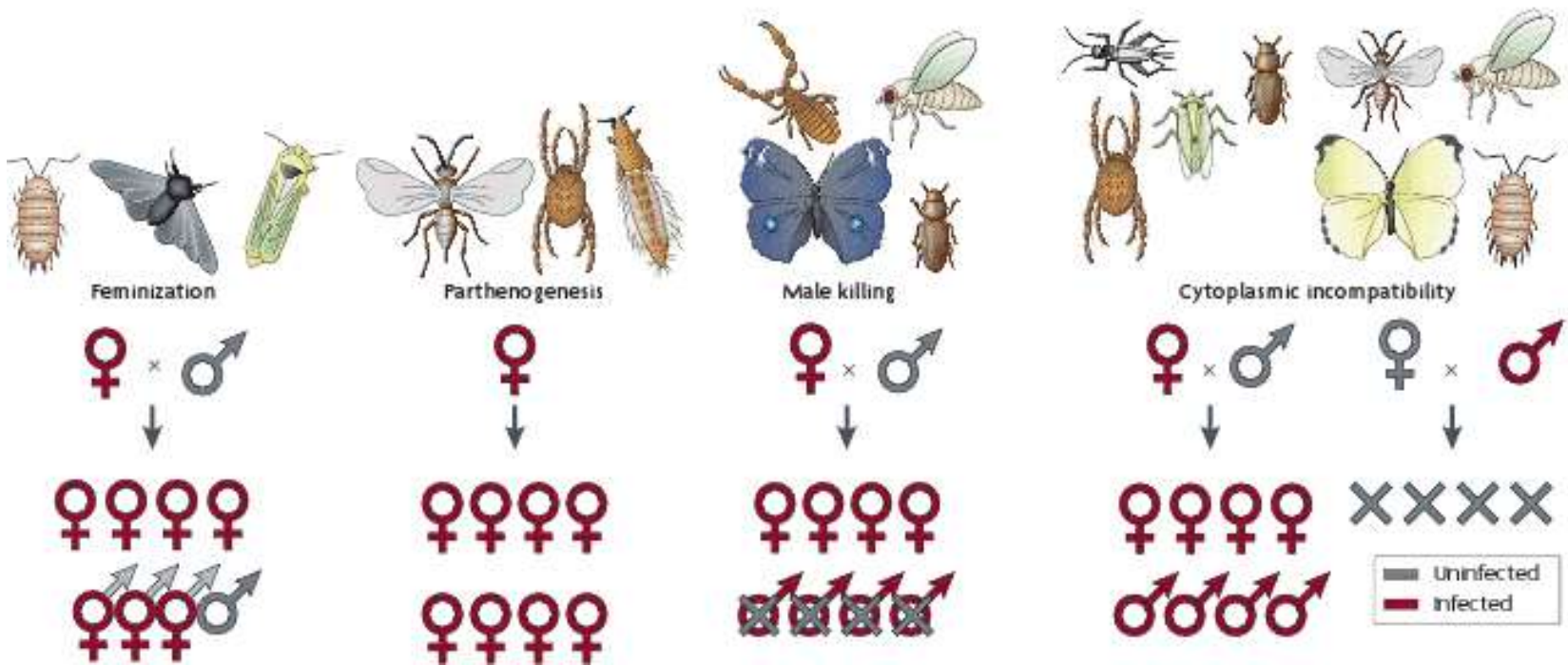
Новосибирск - 2013

Род *Wolbachia*

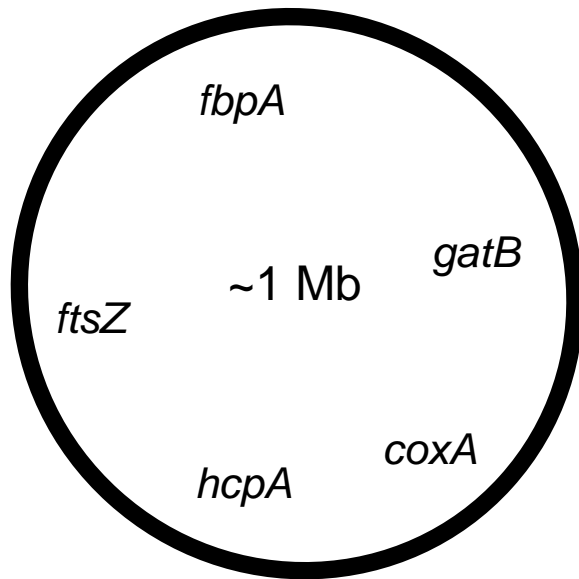
Эндосимбионт членистоногих и некоторых нематод

Наследуется по материнской линии через цитоплазму ооцита

Взаимоотношение с хозяином: паразитизм, мутуализм, комменсализм

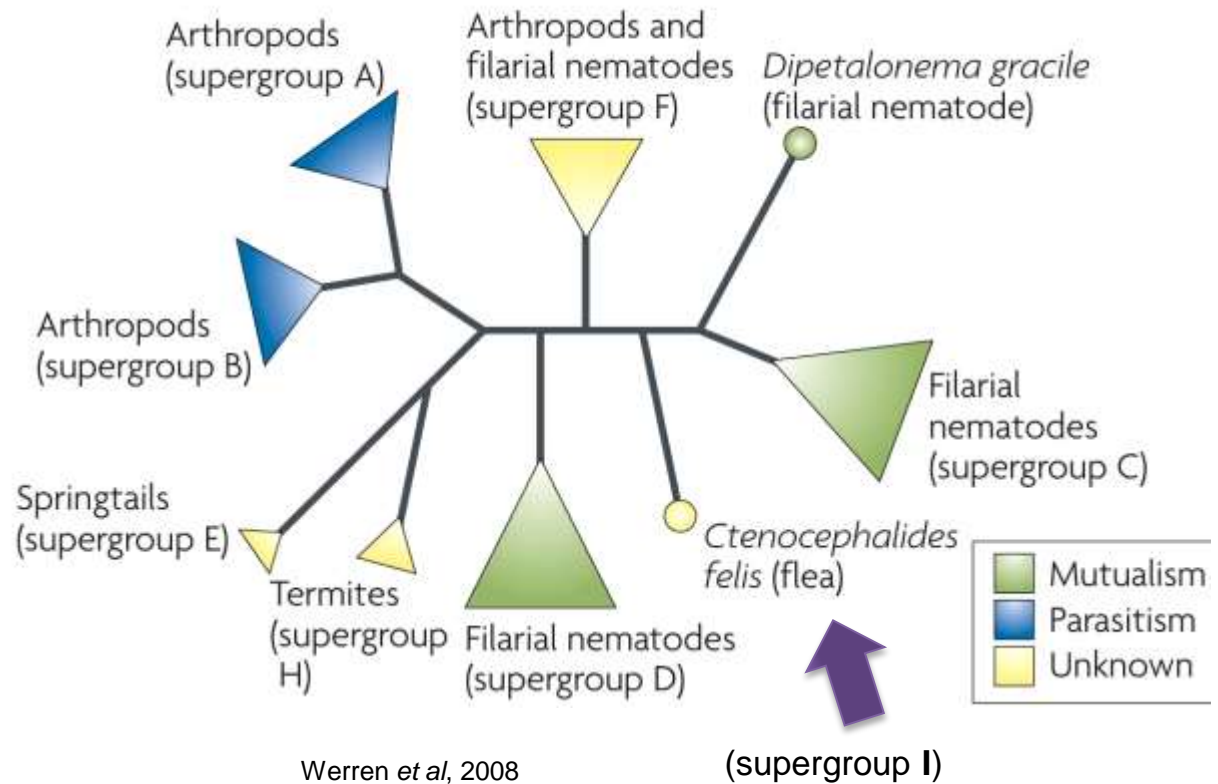


Генетическое разнообразие *Wolbachia*



Генетическая карта *Wolbachia* и гены Multilocus Sequence Typing

Супергруппы *Wolbachia*



Паразитические перепончатокрылые, стрекозы, клещи, коллемболы, **блохи** еще мало исследованными на инфицированность *Wolbachia*

Цель и задачи:

Цель: поиск и выявление симбиотических ассоциаций Siphonaptera-Wolbachia и определение генетического разнообразия эндосимбиотической бактерии *Wolbachia*.

Задачи:

- 1) Определить распространенность эндосимбионта *Wolbachia* в коллекции 15 видов Siphonaptera, собранных на территории Хабаровского края и Свердловской области.
- 2) На основе изучения нуклеотидного разнообразия пяти консервативных генов *Wolbachia* установить генетическое разнообразие бактерий, обнаруженных у видов отряда Siphonaptera, и провести филогенетический анализ полученных данных.

Известное
разнообразие блох:
2575 видов
238 родов
16 семейств



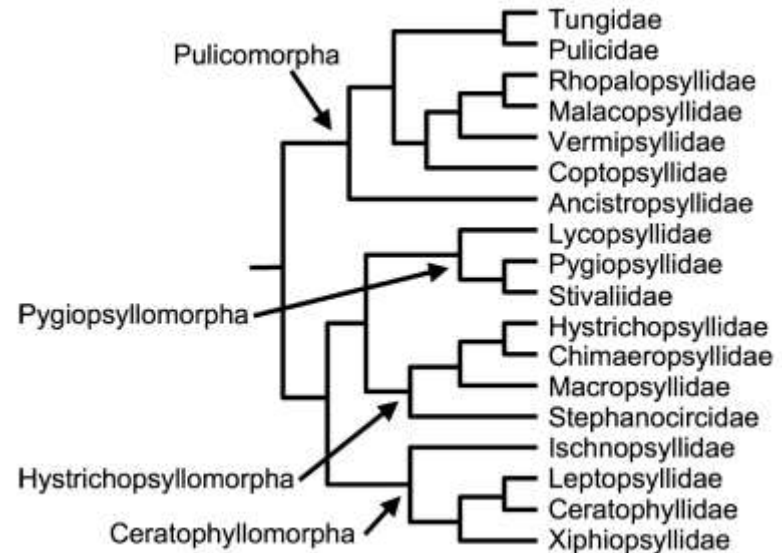
Коллекция блох

252 образца, 15 вида

Инфраотряды исследованных блох:

- Histrichopsyllomorpha (111)
- Ceratopsyllomorpha (141)

Материал собран и определен
к.б.н. с.н.с. Н. И. Винарской (НИИПОИ, Омск)
и Н. П. Высочиной (ПЧС, Хабаровск)



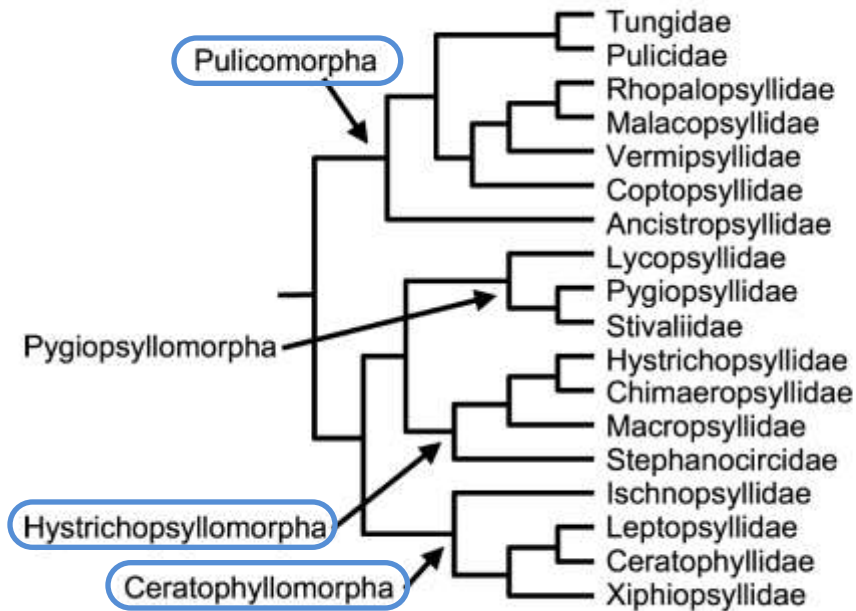
Филогения блох на основе морфологии
(Медведев 1998).



Инфицированность коллекции

| Семейство | Вид | Регион сбора | Число образцов (инфицированных образцов) | Процент инфицированных |
|-------------------------------|-------------------------------------|--------------|--|------------------------|
| Histrichopsyllidea | <i>Catalagia striata</i> | Xб | 1 (0) | 0 |
| | <i>Ctenophthalmus congeneroides</i> | Xб | 62 (0) | 0 |
| | <i>Ct. pisticus pacificus</i> | Xб | 9 (0) | 0 |
| | <i>Doratopsylla birulai</i> | Xб | 5 (1) | 20 |
| | <i>Hystrichopsylla microti</i> | Xб | 7 (0) | 0 |
| | <i>H. talpae</i> | Св | 10 (8) | 80 |
| | <i>Neopsylla acanthina</i> | Xб | 11 (1) | 9 |
| | <i>Palaeopsylla sorecis</i> | Xб | 1 (0) | 0 |
| | | Св | 3 (0) | 0 |
| <i>Stenoponia sidimi</i> | Xб | 2 (0) | 0 | |
| Ceratophyllidea | <i>Frontopsylla elata botis</i> | Xб | 20 (13) | 65 |
| | <i>Megabothris advenarius</i> | Xб | 13 (5) | 39 |
| | <i>M. calcarifer</i> | Xб | 23 (1) | 4 |
| | <i>Monopsyllus indages</i> | Xб | 1 (0) | 0 |
| Leptopsyllidea | <i>Leptopsylla bidentata</i> | Св | 2 (0) | 0 |
| | <i>L. pectiniceps</i> | Xб | 82 (0) | 0 |
| (Илинский, Юдина и др., 2013) | | Итого | 252 (29) | 11,5 |

Насколько широко распространена *Wolbachia* среди видов отряда Siphonaptera?



Wolbachia обнаружена у представителей 3-х инфраотрядов (Gorham *et al.*, 2003; Dittmar, Whiting, 2004; Luchetti *et al.*, 2005; Sekeyová *et al.*, 2012) общее видовое разнообразие: 2307 видов блох

Нижняя граница инфицированности – 25%

Экстраполяция $\Rightarrow \geq 570$ видов инфицировано *Wolbachia*

Генетическое разнообразие *Wolbachia* на основании анализа генов MLST

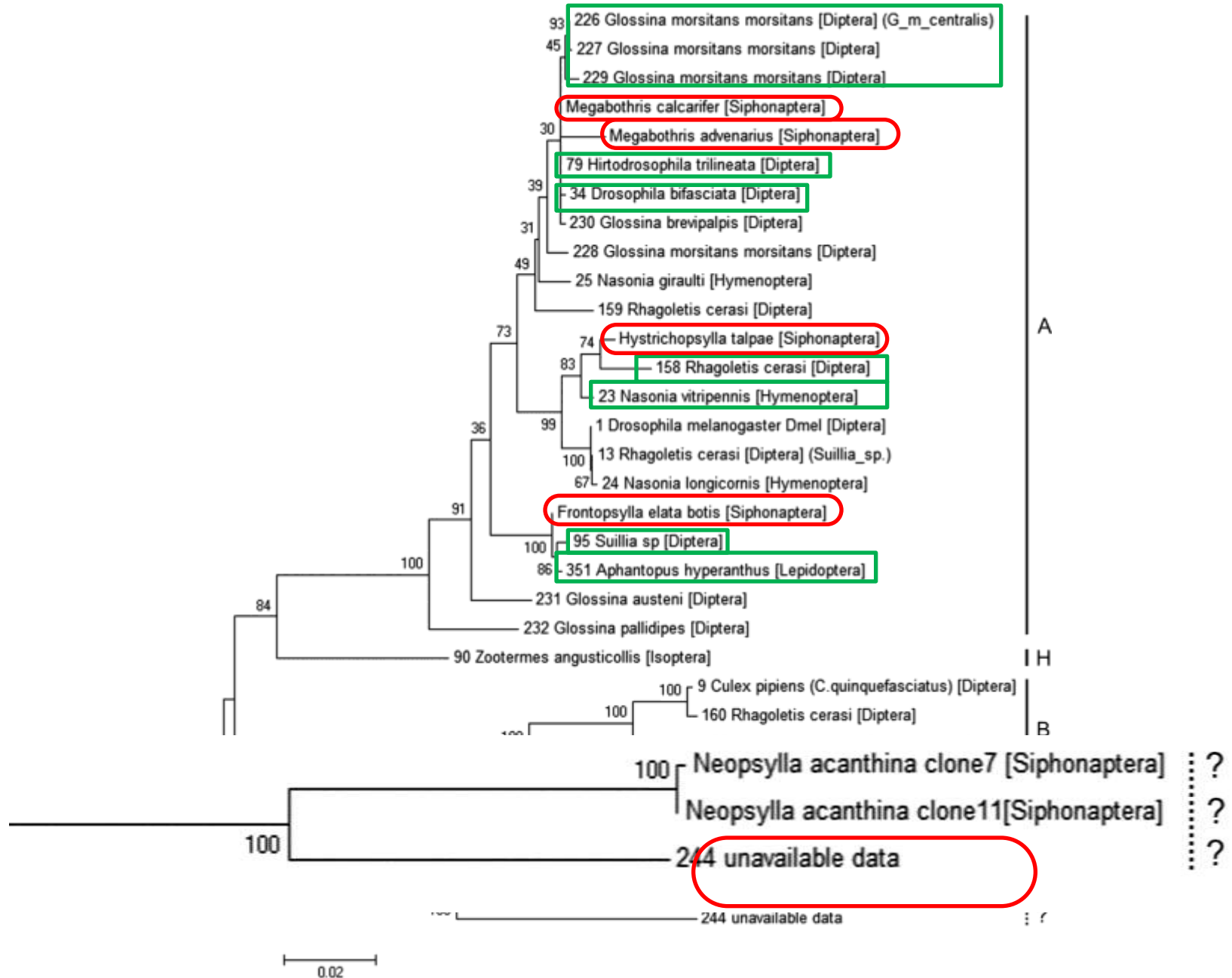
указаны номера аллелей;

| Вид \ Ген | <i>gatB</i> | <i>coxA</i> | <i>hcpA</i> | <i>ftsZ</i> | <i>fbpA</i> | ST |
|---------------------------------|----------------|----------------|--------------------------------|----------------|--------------------------------|----|
| <i>Megabothris calcarifer</i> | 14 | 15 | 23 | 56 | 15 | 79 |
| <i>M. advenarius</i> | 14 | 15 | H ₁ | 56 | 64 | |
| <i>Frontopsylla elata botis</i> | G ₁ | 57 | 196 | Z ₁ | 64 | |
| <i>Hystrihopsylla talpae</i> | 8 | C ₁ | H ₂ | 79 | 62 | |
| <i>Doratopsylla birulai</i> | ? | 15 | 23+H ₃ | 56 | F ₁ +F ₂ | |
| <i>Neopsylla acanthina</i> | G ₂ | C ₂ | H ₄ +H ₅ | Z ₂ | F ₃ | |

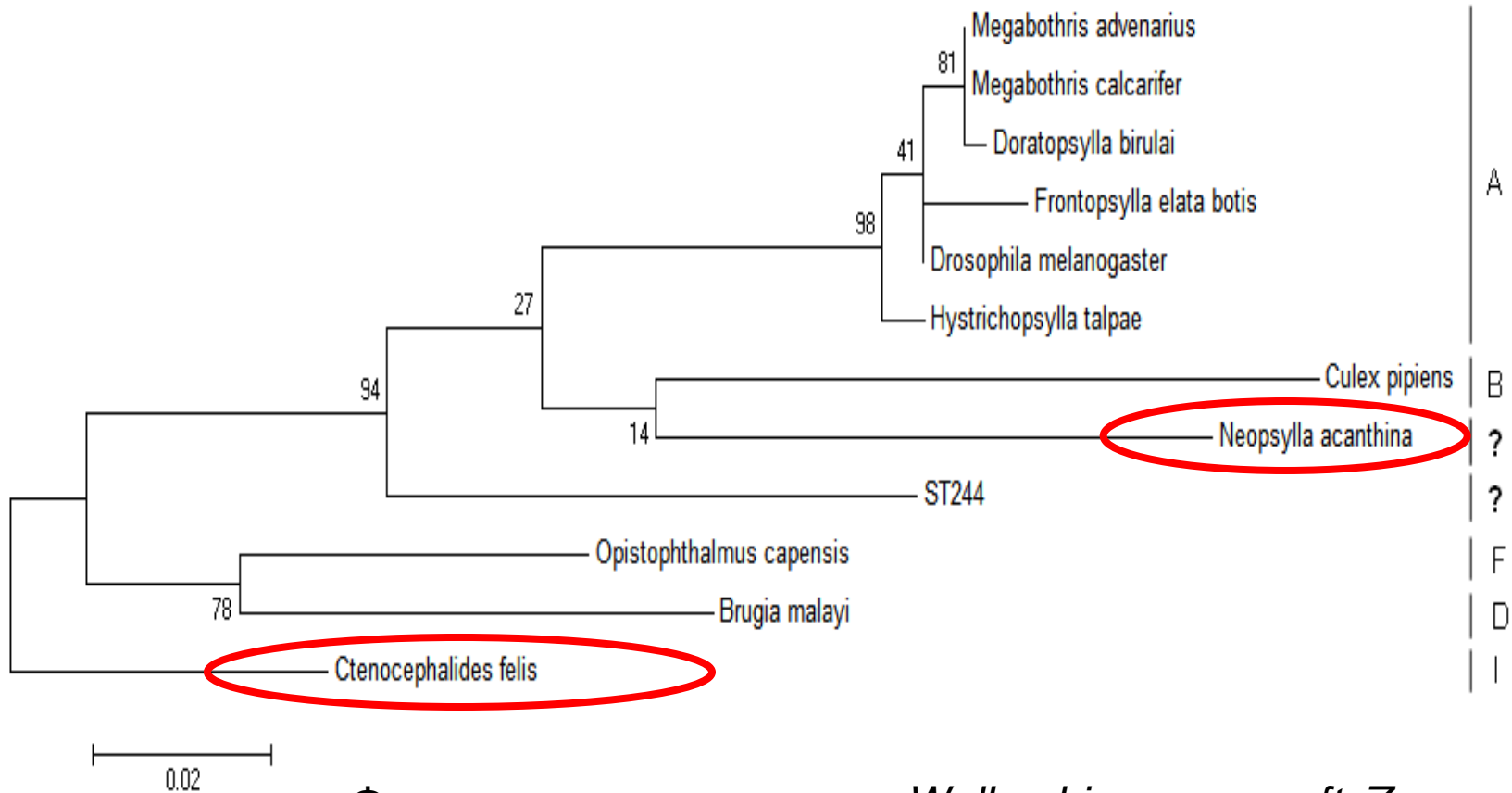
? – анализ не завершен;

Цветом и буквами отмечены новые аллели генов.

Филогенетическое дерево *Wolbachia*

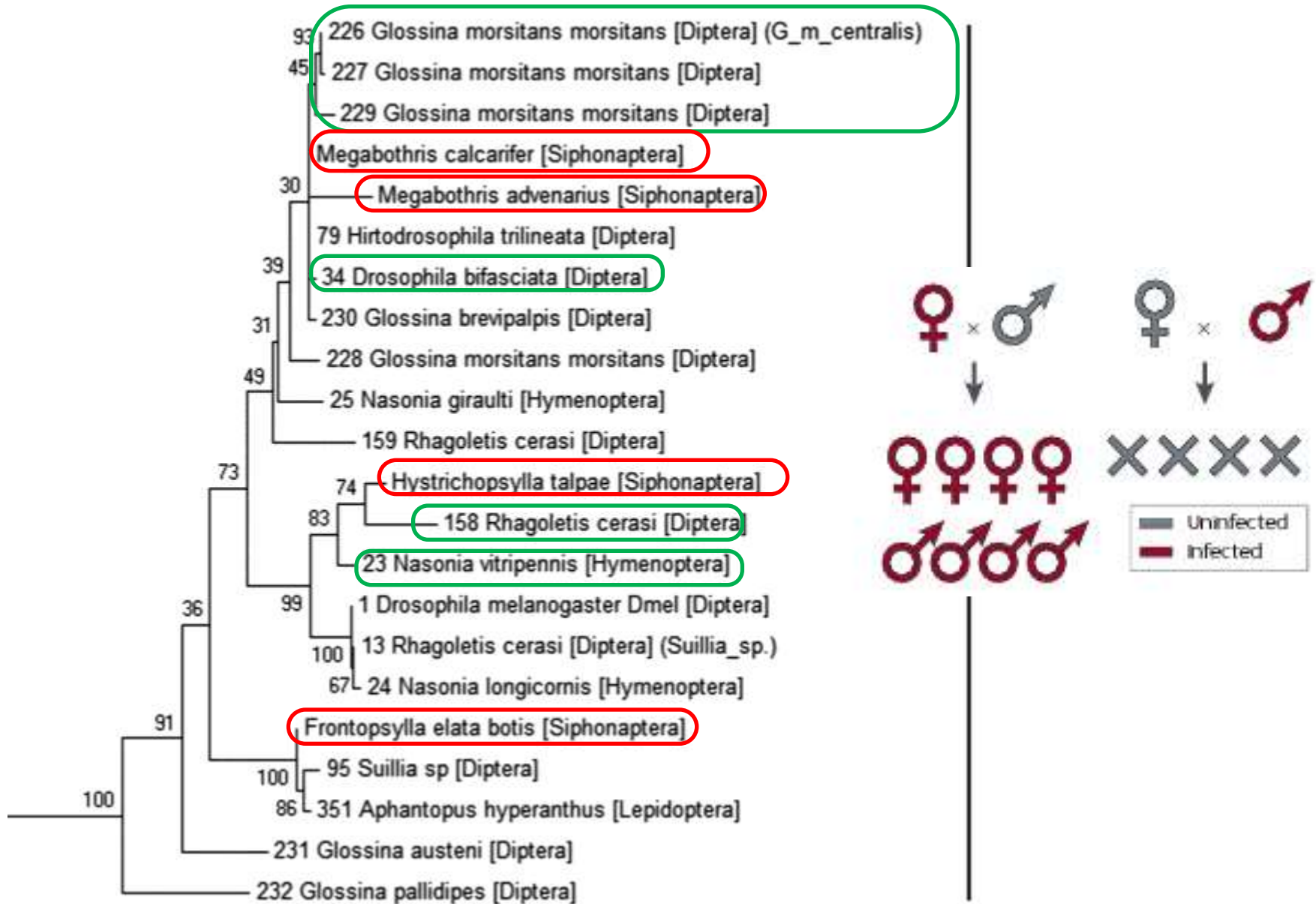


А принадлежит ли *Neopsylla acanthina* супергруппе I, описанной для *Ctenocephalides felis* ?



Филогенетическое дерево *Wolbachia* для гена *ftsZ*

Возможная биологическая роль Wolbachia



Выводы:

- 1) Впервые *Wolbachia* обнаружена у шести видов блох: *Megabothris advenarius*, *M. calcarifer*, *Doratopsylla birulai*, *Frontopsylla elata botis*, *Hystrichopsylla talpae*, *Neopsylla acanthina*. На основании сравнительного анализа полученных в работе и литературных данных, оценена потенциальная распространенность *Wolbachia* среди, как минимум, 570 видов отряда Siphonaptera из инфраотрядов Hystrichopsyllomorpha, Pulicomorpha и Ceratophyllomorpha.
- 2) Для шести видов блох выявлено 15 новых MLST-аллелей *Wolbachia*. Эндосимбионт, выделенный из *Megabothris advenarius*, *M. calcarifer*, *Doratopsylla birulai*, *Frontopsylla elata botis*, *Hystrichopsylla talpae*, принадлежит к супергруппе A. Обнаружены факты мультиинфицированности для видов *Doratopsylla birulai* и *Neopsylla acanthina*. Профиль *Neopsylla acanthina*, по всей видимости, следует выделить в новую супергруппу.

По результатам работы вышла статья и выступления

Илинский Ю. Ю., Юдина М. А., Калмыкова Е. А., Быков Р. А., Высочина Н. П., Винарская Н. П., Захаров И. К. Инфицированность эндосимбиотической бактерией *Wolbachia* видов блох (Siphonaptera, Insecta) Свердловской области и Хабаровского края // Экологическая генетика. – 2013. – Т. 9, Вып. 1. – С. 32–35.

Результаты работы представлены в форме секционных докладов на: Международной научной студенческой конференции «Студент и научно-технический прогресс», г. Новосибирск, название доклада: «Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* у представителей отряда блох (Insecta: Siphonaptera)», подсекция молекулярной биологии, 3-е место.

Всероссийская конференция молодых ученых «Экология: теория и практика», г. Екатеринбург, название доклада: «Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* у представителей отряда Siphonaptera (блохи)», 2-е место.

Благодарности

к.б.н. В. Н. Рар (ИБХФМ СО РАН) за содействие в исследовании;
к.б.н. Н. И. Винарской (НИИПОИ, Омск) и Н. П. Высочиной (ПЧС, Хабаровск) за предоставление коллекции блох;
к.б.н. П. А. Белавину, асп. М. Ю. Помазному, к.б.н. С. В. Шеховцову, Е. А. Иванкиной (МКБ СО РАН) за помощь в освоении и проведении молекулярных методов;
к.б.н. А. В. Дорошкову за помощь в интерпретации данных филогенетического анализа;
д.б.н., проф. И. К. Захарову, асп. Р. А. Быкову, А. Д. Брошкову (НГУ) за высказанные замечания и при обсуждении результатов.