

Заражай и властвуй!

Еще совсем недавно изучению роли бактерий, живущих внутри организмов, не уделялось достаточного внимания, однако сегодня проблемами микромира занимаются научные коллективы по всему миру. По современным данным, микроорганизмы-симбионты оказывают огромное влияние не только на здоровье, но и на поведение своих хозяев и даже способствуют образованию среди них новых видов! Одними из ярких представителей таких микроорганизмов являются бактерии рода *Wolbachia*, которые живут внутри клеток насекомых, влияя на их размножение, поведение и общую приспособленность к условиям окружающей среды

Бактерии *Wolbachia* в яйцевой трубке яичника плодовой мушки дрозофилы (красный цвет). Синим цветом окрашены ядра клеток.
Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

Ключевые слова: бактерия *Wolbachia*, насекомые, микроскопия, стратегии контроля насекомых-вредителей, лихорадка Денге.
Key words: *Wolbachia* bacteria, insects, microscopy, pest control strategies, Dengue fever



ЖУКОВА Мария Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 5 научных работ

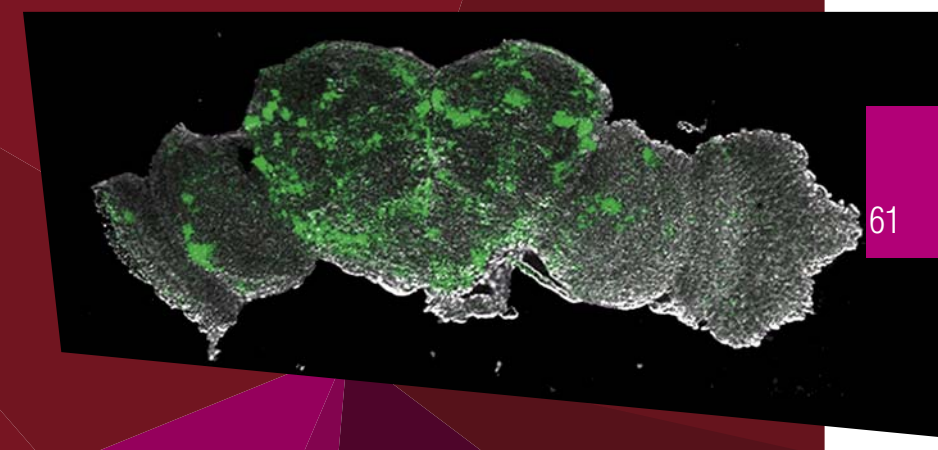
СТРУНОВ Антон Александрович – младший научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Автор и соавтор 7 научных работ

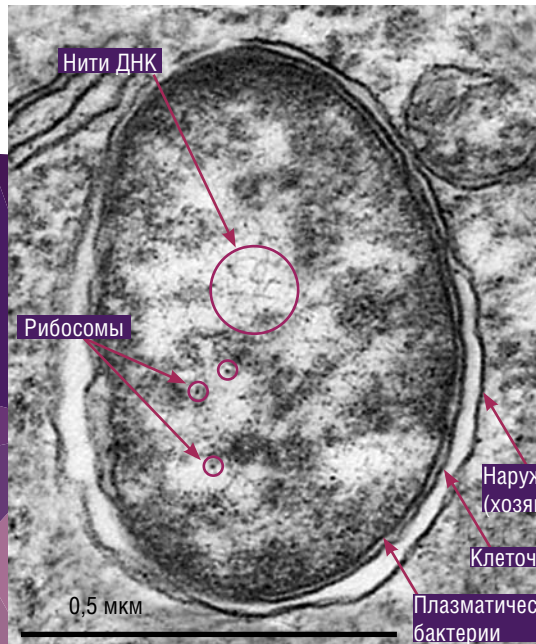
МАЛЬКЕЕВА Дина Александровна – аспирант Новосибирского государственного университета, инженер лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск)

КИСЕЛОВА Елена Владимировна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии и функции клеточных структур Института цитологии и генетики СО РАН (Новосибирск). Победитель всероссийского конкурса научных фотографий «Наука – это красиво!» в номинации «Мир, скрытый от наших глаз» (2009, 2010). Автор и соавтор более 200 научных работ

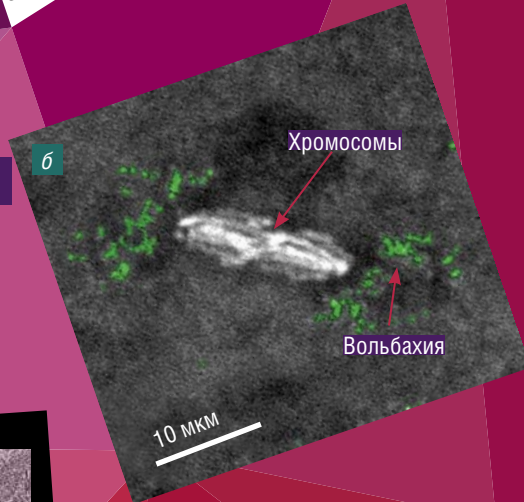
Бактерий рода *Wolbachia* по праву можно назвать одними из самых распространенных микроорганизмов на Земле. По последним данным, они встречаются у 40% видов наземных беспозвоночных, включая насекомых, паукообразных, ракообразных и нематод, и круг хозяев, в которых обнаруживают эти бактерии, постоянно расширяется (Zug, Hammerstein, 2012). А ведь только одних насекомых известно на сегодня более 1 млн видов!

Удивительные способности *Wolbachia*, обеспечивающие такое широкое распространение

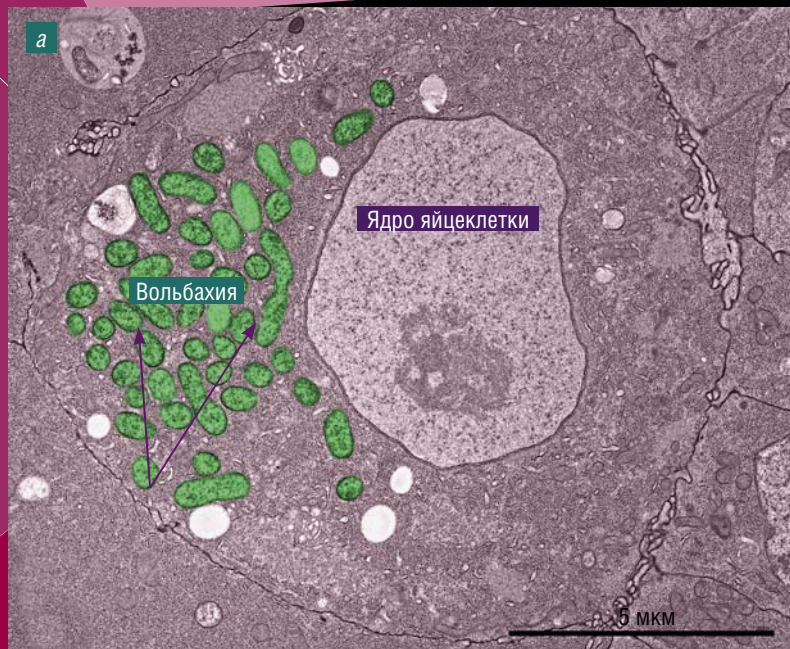
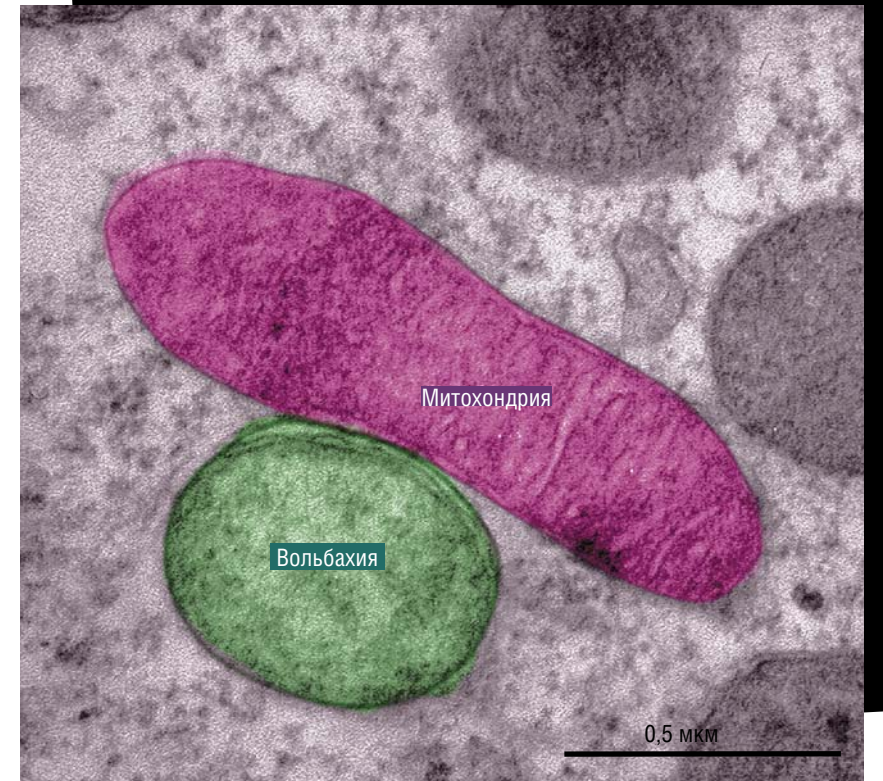




Бактерии рода *Wolbachia* были впервые обнаружены в 1924 г. М. Гертигом и С. В. Вольбахом в яичниках комаров-пискунов (*Culex pipiens*). Эти бактерии наиболее близки к риккетсиям — мелким специализированным микроорганизмам, вызывающим различные болезни животных и человека. В отличие от риккетсий, вольбахия не способна инфицировать млекопитающих. Слева — вольбахия в клетках мозга *Drosophila melanogaster*. Электронная просвечивающая микроскопия.



Цитоплазма эмбриона дрозофилы. Бактерии рода *Wolbachia* тесно взаимодействуют с органеллами клеток хозяина, такими как клеточные «электростанции» митохондрии. Электронная просвечивающая микроскопия



Этих микроорганизмов в природных популяциях беспозвоночных, отражены в таких часто используемых для них названиях, как «репродуктивный паразит» и «бактерия-манипулятор».

Дело в том, что вольбахия способна вызывать у своих хозяев все четыре известные на сегодня модификации полового размножения, возникающие под действием микроорганизмов (Yen, Barr, 1971; Werren *et al.*, 2008). Подобное влияние бактерии на размножение беспозвоночных связано с тем, что они обязательно «заселяют» клетки яичников и семенников.

Поскольку вольбахия может жить только внутри клеток живого организма, то и передается она из поколения в поколение хозяев преимущественно через цитоплазму яйцеклеток, т.е. по материнской линии («вертикальный перенос»). Передача от одной особи к другой («горизонтальный перенос») в при-

роде происходит достаточно редко, однако в эволюционном масштабе времени такие события все же случаются, что отчасти объясняет широкое распространение бактерий в природе.

Венера против Марса

Заражение вольбахией приводит к возникновению у ее хозяев ряда репродуктивных нарушений.

Цитоплазматическая несовместимость проявляется в гибели потомства от зараженного самца и незараженной вольбахией самки, а также от двух особей, зараженных разными штаммами бактерии. Этот наиболее широко распространенный вид репродуктивного нарушения обнаружен у большого количества насекомых, равноногих ракообразных и клещей. Процент смертности, происходящей на эмбриональной стадии, может варьироваться от 0 до 100% от числа отложенных яиц.

Вызываемый вольбахией партеногенез («девственное размножение», т.е. без оплодотворения) описан для клещей, перепончатокрылых, трипсов и ногохвосток (Charlat *et al.*, 2003). У этих членистоногих самки обычно развиваются из оплодотворенных яиц, несущих «двойной» набор хромосом, полученный от обоих родителей, а самцы — из неоплодотворенных яиц с гаплоидным материнским набором хромосом. Однако

в потомстве зараженных особей из неоплодотворенных яиц также развиваются самки.

Это происходит благодаря вмешательству вольбахии в процесс клеточного деления на ранних стадиях развития эмбрионов. В результате удвоения материнского набора хромосом в клетках эмбрионов потомство зараженных особей представлено исключительно «женским полом».

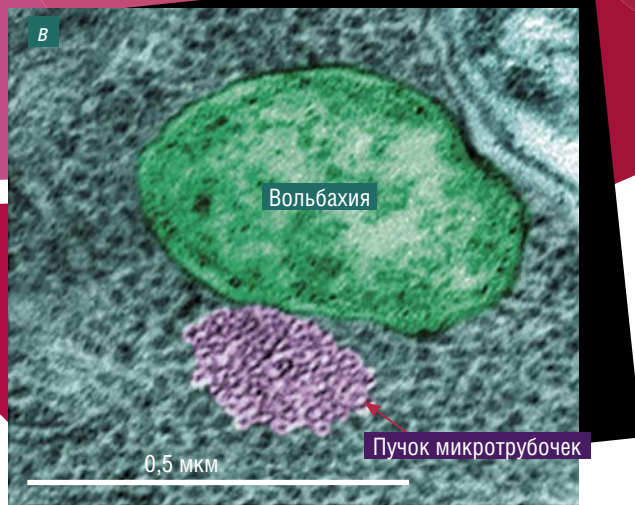
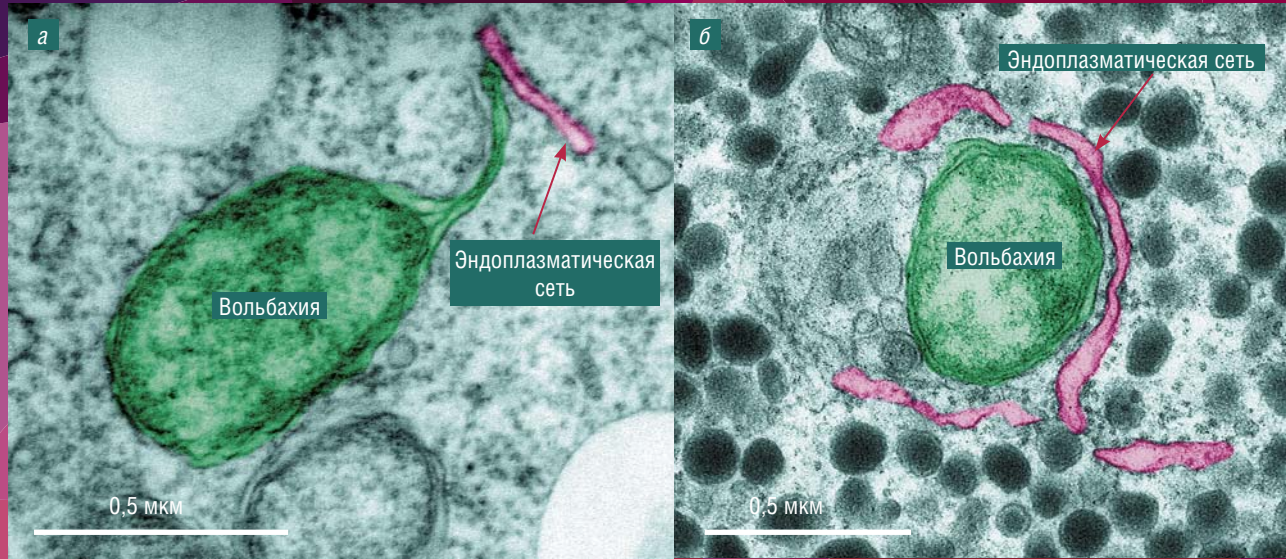
У равноногих ракообразных и некоторых насекомых, зараженных вольбахией, был обнаружен еще более необычный феномен — феминизация, превращение в самок «генетических» самцов с мужским набором хромосом (Werren *et al.*, 2008). Это происходит благодаря тому, что в присутствии бактерий подавляется развитие так называемой «андрогенной железы», которая вырабатывает «мужской гормон», необходимый в норме для развития самцов.

В некоторых случаях вольбахия может также вызывать андроцид («гибель самцов») на ранних стадиях эмбрионального развития. Это явление описано у жуков, бабочек, дрозофил и лжескорпионов (Werren *et al.*, 2008).

Все эти случаи вмешательства вольбахии в «личную жизнь» своих хозяев связаны с их статусом репродуктивного паразита. Цитоплазматическая несовместимость помогает снизить плодовитость незараженных самок, тем самым увеличивая в потомстве долю

Вольбахия передается из поколения в поколение хозяина (например, дрозофилы) по материнской линии — через цитоплазму яйцеклеток (а). В ранних эмбрионах дрозофилы бактерии при делении клеток локализуются преимущественно вблизи полюсов веретена деления, состоящего из микротрубочек. Такое расположение обеспечивает попадание бактерии в обе дочерние клетки (б).

Электронная просвечивающая микроскопия (а), лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (б)



Вольбахия контактирует также с эндоплазматической сетью в цитоплазме эмбриона (а) и в нервной клетке (б) дрозофилы. Бактерии *Wolbachia* используют микротрубочки для перемещения в клетках хозяев. На микрофотографиях бактерии взаимодействуют с пучком микротрубочек на поперечном (в) и продольном (г) срезах в клетках яичника дрозофилы. Электронная просвечивающая микроскопия



зараженных матерей. Это способствует распространению бактерий в популяции хозяина при сохранении соотношения самок и самцов. Партогенез же, феминизация и андроцид приводят к нарушению этого соотношения, увеличивая в популяции долю самок, потомство которых будет заведомо заражено бактерией-манипулятором.

Макроэффекты микроорганизма

Помимо манипулирования размножением своих хозяев вольбахия может оказывать влияние на их общую приспособленность.

Так, присутствие этих бактерий в организме насекомых (комаров, дрозофил) приводит к повышению устойчивости последних к другим паразитам: возбудителю малярии (малярийному плазмодию), а также к различным вирусам (например, вирус *Drosophila C*). Кроме того, повышается устойчивость насекомых к вирусам, представляющим опасность для человека (вирусы лихорадки Денге, желтой лихорадки, лихорадки Западного Нила), для которых они служат переносчиками (Teixeira *et al.*, 2008; Glaser, Meola, 2010; Van den Hurk *et al.*, 2012; Chrostek *et al.*, 2013).

Поскольку наиболее хорошо изученным объектом среди насекомых является дрозофила, именно она послужила моделью для ряда исследований, направленных на изучение процессов взаимодействия организма насекомого-хозяина с вольбахией.

В таких исследованиях было обнаружено, например, что вольбахия влияет на метаболизм железа, которое ее хозяин получает с пищей. При помещении дрозофил на корм с недостатком или избытком солей железа незараженные особи откладывали меньшее количество яиц по сравнению с зараженными (Brownlie *et al.*, 2009; Kremer *et al.*, 2009).

Одним из наиболее поразительных свойств этих внутриклеточных бактерий является их способность влиять на поведение своих хозяев. Так, для двух видов дрозофил (*Drosophila melanogaster* и *Drosophila paulistorum*) показано, что если самки и самцы будут заражены разными штаммами вольбахии, они будут избегать скрещивания, которое должно привести к цитоплазматической несовместимости (Koukou *et al.*, 2006; Miller *et al.*, 2010).

Это означает, что дрозофилы способны каким-то образом распознавать своих «собратьев по вольбахии». Механизм этого явления пока неизвестен, но предполагается, что он связан с присутствием бактерий в клетках специфических отделов мозга хозяев, отвечающих за поведение, и в клетках жирового тела – органа насекомых, принимающего участие в выработке феромонов (веществ внешней секреции, отвечающих за химическую коммуникацию внутри вида).

НАУКА из первых рук <http://scfh.ru/papers/zarazhay-i-vlastvuy/>

Исследования структурной организации и функции вольбахий в различных линиях дрозофил при нормальных и стрессовых условиях окружающей среды ведутся в течение ряда лет в новосибирском Институте цитологии и генетики СО РАН (Дудкина и др., 2004; Жукова и др., 2008). При этом особое внимание уделяется патогенному штамму *wMelPop* (от *popcorn* – попкорн), который был назван так за его способность активно размножаться в клетках организма дрозофилы, заполняя собой все свободное пространство подобно попкорну в микроволновке (Min, Benzer, 1997). Эти бактерии снижают продолжительность жизни насекомых приблизительно в два раза уже при обычной (25 °C) температуре, а при повышении температуры этот негативный эффект бактерий усиливается.

Исследование динамики заселения клеток мозга дрозофилы бактериями штамма *wMelPop* показало, что они попадают туда на ранних стадиях развития насекомого, т. е. во время эмбриогенеза. Однако активно делиться они начинают только во взрослом насекомом, постепенно разрушая его нервную систему, при этом скорость деления бактериальных клеток увеличивается с ростом температуры (Strunov *et al.*, 2013).

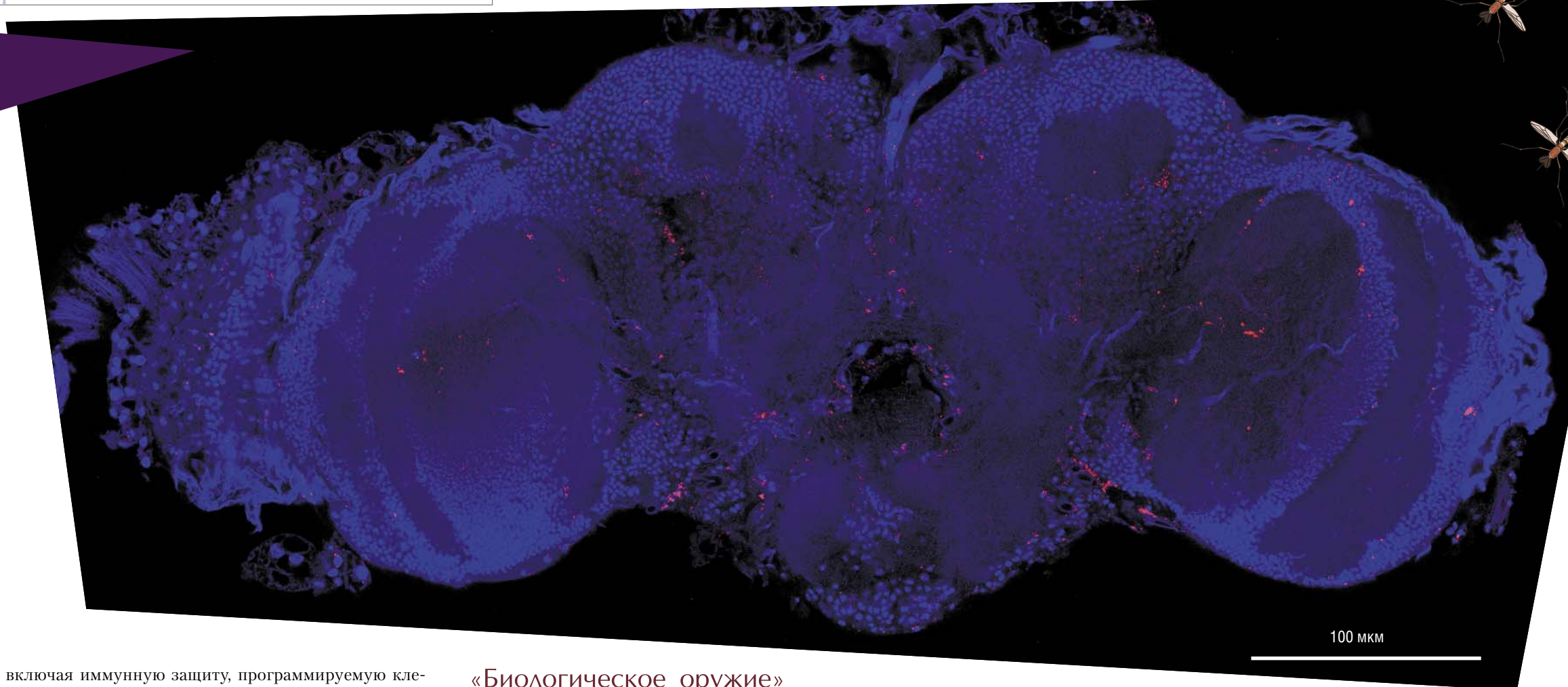
Кстати сказать, патогенный штамм *wMelPop* оказывает негативное влияние и на размножение дрозофил, вызывая увеличение частоты программируемой клеточной гибели в формирующихся фолликулах яичников плодовой мушки (Zhukova, Kiseleva, 2012).

Желтолихорадочные кусаки

Каким же способом эти удивительные бактерии влияют на своих хозяев, вызывая такие разные последствия? Пролить свет на механизм этих взаимодействий позволили недавние исследования, проведенные на желтолихорадочных кусаках (*Aedes aegypti*) – комарах, которые являются переносчиками ряда тяжелых заболеваний человека, включая желтую лихорадку и лихорадку Денге.

Эти насекомые были заражены в лабораторных условиях штаммом *wMelPop*, специфичным для дрозофил (McMeniman *et al.*, 2009). Чтобы бактерии адаптировались к условиям жизни внутри нового хозяина, их предварительно содержали в течение 2,5 лет в культуре клеток бело-пестрых кусак, а затем еще около года – в культуре клеток самих желтолихорадочных комаров (McMeniman *et al.*, 2008).

Исследования показали, что присутствие бактерий в клетках комаров приводит к изменению в них уровня синтеза ряда микроРНК (Hussain *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013). Эти короткие одноцепочечные РНК длиной 18–25 нуклеотидов не кодируют никаких белков, однако принимают участие в регуляции работы большого числа генов. Поэтому они играют важнейшую роль во многих процессах жизнедеятельности организма,



Бактерии рода *Wolbachia* присутствуют не только в яичниках, но и во многих других тканях и органах хозяина, например, в мозге. Изучение динамики распределения бактерий в клетках мозга насекомых необходимо для понимания механизмов влияния микроорганизмов на поведение их хозяев. Слева – мозг дрозофилы, зараженной вольбахией штамма *wMel*. Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия

включая иммунную защиту, программируемую клеточную гибель и т. д.

Оказалось, что в присутствии вольбахии увеличивается уровень синтеза микроРНК, которые участвуют в регуляции плотности распределения этих бактерий в тканях комаров. Эти же микроРНК повышают устойчивость комаров к вирусу лихорадки Денге (Hussain *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013).

Еще одно интересное открытие было сделано при изучении штамма вольбахии *wPip*, которым заражены комары-пискуны (*Culex pipiens*). В геноме этих бактерий был обнаружен регулятор транскрипции, влияющий на экспрессию гена хозяина, ответственного за проявление цитоплазматической несовместимости (Pinto *et al.*, 2013).

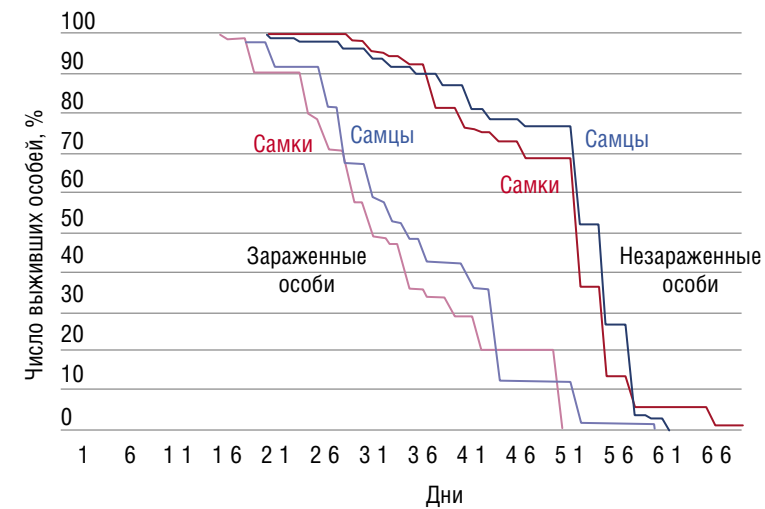
Все эти данные свидетельствуют о том, что физиологические и поведенческие особенности зараженных бактериями насекомых, которые можно наблюдать в лабораторных условиях и в природе, обеспечиваются переплетением множества различных, генетически обусловленных механизмов взаимодействия двух кардинально различных (про- и эукариотических) организмов. И, конечно, эти непростые взаимодействия требуют дальнейшего глубокого изучения.

«Биологическое оружие» против лихорадки

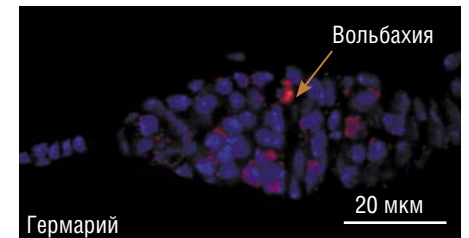
Интенсивное исследование вольбахии за последние десятилетия принесло не только фундаментальные «плоды»: с их помощью удалось сделать значимые шаги в борьбе с заболеваниями животных и человека, которые переносятся насекомыми.

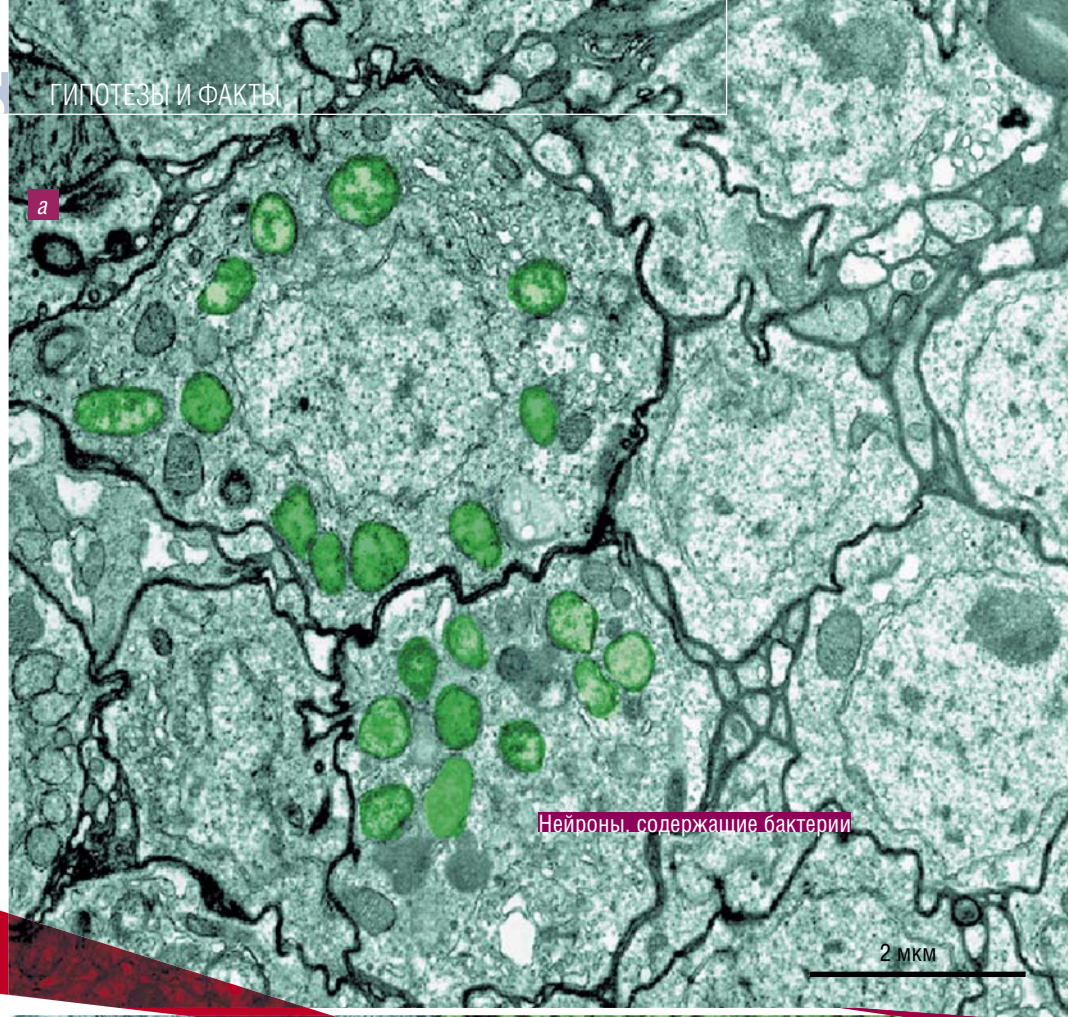
Оказалось, что в организме все тех же желтолихорадочных комаров, зараженных вольбахией штамма *wMel*, практически не размножается вирус лихорадки Денге; следовательно, комар перестает быть переносчиком этого опасного заболевания (Walker *et al.*, 2011). Заметим, что ежегодно в мире лихорадкой Денге болеет около 360 млн человек, профилактической же вакцины для этого заболевания до сих пор нет (Bhatt *et al.*, 2013).

Первые полевые испытания нового «биологического оружия» против лихорадки Денге начали австралийские ученые под руководством профессора С. О'Нейлла. В 2011 г. они выпустили в окрестностях г. Кэрнса желтолихорадочных комаров, инфицированных в лаборатории бактериями штамма *wMel* (Hoffmann *et al.*, 2011). Сходные испытания были начаты в двух районах



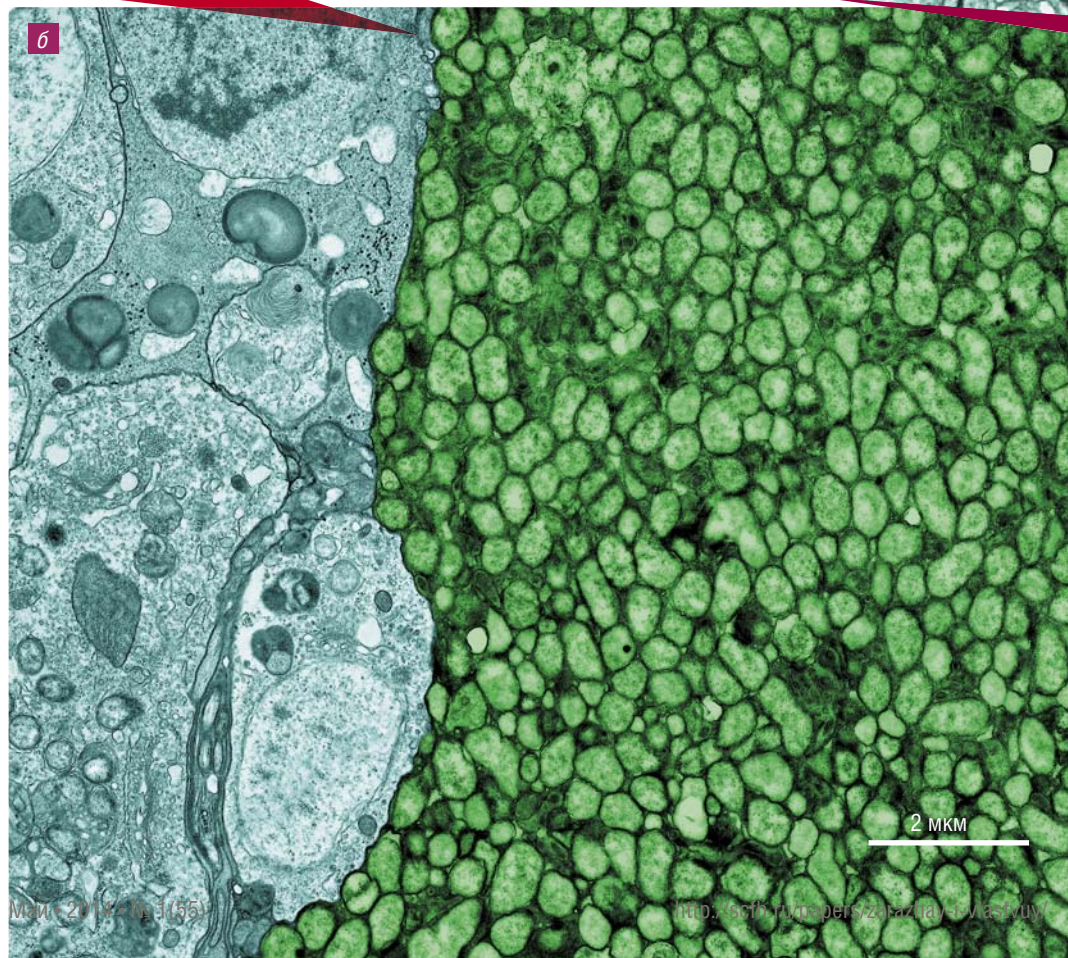
Заражение дрозофил патогенным штаммом вольбахии *wMelPip* значительно сокращает продолжительность их жизни (слева) и влияет на их размножение, вызывая гибель клеток в гермарию – передней части яйцевой трубки дрозофилы, где формируются фолликулы с яйцеклетками (справа). У зараженных особей число таких гермариев увеличивается. Флуоресцентная микроскопия





Нейроны, содержащие бактерии

2 мкм



2 мкм



на островах Индонезии; подобная программа планируется и на о-ве Чи Нгуен (Вьетнам).

Предполагается, что численность комаров, зараженных вольбахией, должна расти, и они будут вытеснять из популяции незараженных особей за счет эффекта цитоплазматической несовместимости. Сегодня на экспериментальных территориях в Австралии сохраняется высокий уровень зараженности комаров. Однако, несмотря на достигнутые успехи, заключение об эффективности такого метода борьбы с опасным заболеванием можно будет сделать только через несколько лет, проанализировав динамику заболеваемости людей на этих территориях.

Открытием внутриклеточной бактерии вольбахии ученые получили уникальную модель, на которой можно исследовать взаимодействия между микроорганизмами и макроорганизмом-хозяином, а также взаимные адаптации, позволяющие столь разным существам успешно сосуществовать вместе. Практическое же применение знаний об этих многоликих бактериях делает возможным создание «экологически чистых» методов биологического контроля за популяциями беспозвоночных, являющихся переносчиками опасных для человека заболеваний или вредителями сельского хозяйства.

Исследования вольбахии также помогут пролить свет на ключевое макроэволюционное событие – симбиотическое происхождение внутриклеточных органелл, в частности, митохондрий, с которыми эти бактерии имеют общего предка, другими словами, раскрыть тайну происхождения эукариотической клетки высших организмов, к которым относимся и мы с вами.

Бактерии *Wolbachia* патогенного штамма *wMelPop* активно делятся в клетках мозга взрослых особей дрозофилы, постепенно разрушая нервную систему насекомого:

а – нейроны, содержащие бактерии в цитоплазме; *б* – несколько нейронов, цитоплазма которых заполнена множеством бактерий; *в* – художественная интерпретация микрофотографии. *Электронная просвечивающая микроскопия*

Литература:

Захаров И. А. Бактерии управляют половым размножением насекомых // *Природа*. 1999. № 5. С. 28–34.

Серга С. В., Козарецкая И. А. Загадка распространения *Wolbachia* в природных популяциях *Drosophila melanogaster* // 2013. Т. 74, № 2. С. 99–111.

McGraw E. A., O'Neill S. L. Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem // *Nat. Rev. Microbiol.* 2013. V. 11, № 3. P. 181–193.

Veneti Z. L., Reuter M., Montenegro H., et al. Interactions between inherited bacteria and their hosts: the *Wolbachia* paradigm // *The influence of cooperative bacteria on animal host biology* / Ed. by M. J. McFall Ngai, B. Henderson, E. G. Ruby. C. U. P. 2005. P. 119–142

В публикации использованы фото авторов, полученные на базе Центра коллективного пользования микроскопического анализа биологических образцов ИЦиГ СО РАН

Работа выполнена при финансовой поддержке интеграционного проекта Программы Президиума РАН «Динамичность генофондов, генотипическая и фенотипическая изменчивость в популяции» № 30.33.