ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ БИОЛОГИИ, 2020, том 81, № 5, с. 387–393

УДК 579.881.17

ВЫСОКИЙ УРОВЕНЬ ВСТРЕЧАЕМОСТИ ЭНДОСИМБИОНТА *WOLBACHIA* В ПОПУЛЯЦИЯХ СИБИРСКОГО ШЕЛКОПРЯДА *DENDROLIMUS SUPERANS SIBIRICUS* TSCHETVERIKOV, 1908 (LEPIDOPTERA: LASIOCAMPIDAE) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

© 2020 г. Р. А. Быков[1, *], Г. В. Юрлова[1], М. А. Деменкова[1], В. В. Дубатолов[2], И. А. Керчев[2], А. П. Бурнашева[3], А. С. Рябинин[1], Е. С. Захаров[3], А. П. Шаповал[4], Ю. Ю. Илинский[1, 5]

[1]*Институт цитологии и генетики СО РАН*
пр. ак. Лаврентьева, 10, Новосибирск, 630090 Россия

[2]*Институт систематики и экологии животных СО РАН*
ул. Фрунзе, 11, Новосибирск, 630091 Россия

[3]*Институт биологических проблем криолитозоны СО РАН*
пр. Ленина, 41, Якутск, 677000 Россия

[4]*Биологическая станция "Рыбачий" Зоологического института РАН*
ул. Победы, 32, пос. Рыбачий, Калининградская обл., 238535 Россия

[5]*Всероссийский центр карантина растений*
ул. Пограничная, 32, с. Быково, Московская обл., 140150 Россия

**E-mail: bykovra@bionet.nsc.ru*

Поступила в редакцию 25.03.2020 г.
После доработки 30.04.2020 г.
Принята к публикации 11.06.2020 г.

Сибирский шелкопряд *Dendrolimus superans sibiricus* – один из опасных вредителей хвойных лесов. Вспышки численности популяций этого вида наносят существенный экологический и экономический ущерб, приводя к гибели хвойных лесов. Ранее у *D. superans* в популяциях Хабаровского края нами была выявлена высокая частота встречаемости симбиотических бактерий *Wolbachia*. Эти матерински наследуемые симбионты насекомых могут являться как мутуалистами, так и репродуктивными паразитами. В данной работе мы приводим данные о распространенности и генетическом разнообразии *Wolbachia* в популяциях *D. superans* Хабаровского края, Якутии и Томской области. Нами показан высокий уровень инфицированности (69–100%) популяций сибирского шелкопряда, поддерживающийся в географически удаленных популяциях в течение нескольких лет. Генетическое разнообразие *Wolbachia* в популяциях *D. superans* Томской области и Хабаровского края представлено двумя гаплотипами ST-41 и ST-353, а в Якутии выявлен один гаплотип ST-353. Высокие частоты встречаемости и схожий генетический состав *Wolbachia* у *D. superans* в популяциях разных регионов, возможно, указывают на глубокую интеграцию симбионта в жизненный цикл вида-хозяина.

DOI: 10.31857/S0044459620050036

Представители р. *Dendrolimus* Germar, 1812 являются опасными вредителями хвойных лесов (Han et al., 2019; Qin et al., 2019; Skrzecz et al., 2020; Wilstermann et al., 2020). Мировая фауна насчитывает более 35 видов и подвидов; на территории России распространены три вида: *Dendrolimus pini* (L., 1758), *D. spectabilis* (Butler, 1881) и *D. superans* (Butler, 1881) (Золотухин, 2015, 2019). Сибирский шелкопряд *D. superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 является одним из основных вредителей хвойных лесов на территории Евразии (Рожков, 1963; Mikkola, Ståhls, 2008). Гусеницы питаются на деревьях родов *Pinus*, *Larix*, *Abies* и *Picea* (Kirichenko et al., 2009; Золотухин, 2015). Вспышки численности *D. superans* приводят к дефолиации и гибели хвойных лесов, что наносит существенный экономический ущерб лесному хозяйству (Рожков, 1963; Baranchikov et al., 1997; Гродницкий, 2004; Mikkola, Ståhls, 2008).

Ранее мы выявили высокий уровень встречаемости симбиотической бактерии *Wolbachia* у *D. superans* в популяциях Хабаровского края (Юдина и др., 2017). Бактерии р. *Wolbachia* – это матерински наследуемые симбионты, которые могут существенно влиять на биологию вида-хозяина. *Wolbachia* может приводить к нарушению

половой структуры популяций некоторых видов чешуекрылых в сторону преобладания самок за счет вызываемых симбионтом феминизации и андроцида (Charlat et al., 2007; Narita et al., 2007; Graham, Wilson, 2012). В некоторых случаях *Wolbachia* может индуцировать цитоплазматическую несовместимость, при этом показано, что у одного вида может присутствовать несколько штаммов *Wolbachia*, вызывающих разные репродуктивные аномалии (Hiroki et al., 2004; Charlat et al., 2006; Salunkhe et al., 2014; Arai et al., 2019). Помимо индукции репродуктивных аномалий, *Wolbachia* может выступать и в роли мутуалиста. Так, у ночной бабочки-листовертки *Homona magnanima* (Lepidoptera, Tortricidae) присутствие *Wolbachia* ускоряет развитие личинок и увеличивает массу куколок (Arai et al., 2019). У других видов насекомых *Wolbachia* может предоставлять питательные вещества своему хозяину (Kremer et al., 2009; Hosokawa et al., 2010), защищать от вирусов и паразитов (Teixeira et al., 2008; Cattel et al., 2016; Nouhuys et al., 2016), увеличивать продолжительность жизни и плодовитость инфицированных особей (Barro, Hart, 2001; Dong et al., 2007; Mariño et al., 2017), а в некоторых случаях искусственная элиминация данного симбионта у взрослых самок приводит к их полной стерильности (Dedeine et al., 2001).

Интерес к исследованию *Wolbachia* в популяциях *D. superans* обусловлен тем, что для этого вида характерны вспышки численности, которые могут как влиять на динамику и генетический состав *Wolbachia*, так и быть опосредованы присутствием симбионта. Изучение различных удаленных друг от друга популяций дает возможность оценить масштабы распространения *Wolbachia* и ее генетическое разнообразие у *D. superans*. В данной работе мы расширили географию нашего прошлого исследования (Юдина и др., 2017), включая в него популяции *D. superans* Якутии и Томской области, и пытались ответить на следующие вопросы: 1) отличаются ли частоты встречаемости *Wolbachia* в разных популяциях, 2) какие варианты *Wolbachia* встречаются в разных регионах, 3) есть ли ассоциация вариантов мтДНК *D. superans* и *Wolbachia*. Помимо этого, мы проверили на наличие *Wolbachia* выборку близкого к сибирскому шелкопряду вида – соснового коконопряда *D. pini*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Коллекция насекомых. Материал *D. superans* представлен выборками 1999–2018 гг. из трех регионов России: Томской области, Якутии и Хабаровского края. Объем коллекции составил 194 образца (табл. 1). Дополнительно в анализ были взяты девять образцов *D. pini*, собранных в 2018 г. в Калининградской области. Все насекомые после сбора хранились в сухом виде на матрасиках.

Экспериментальные процедуры. Ранее было показано, что *Wolbachia* у *D. superans* успешно детектируется как в репродуктивных тканях из брюшка, так и в мышечных тканях ног (Юдина и др., 2017). Выделение ДНК из ног предпочтительнее, поскольку генетический материал в них сохраняется лучше, чем в массивных брюшках, где он зачастую деградирует во время хранения. В связи с этим выделение ДНК в данной работе проводили преимущественно из ног *D. superans*. Материал индивидуально гомогенизировали в экстрагирующем буфере CTAB (2% CTAB, 1.4 M NaCl, 100 мМ Tris-HCl (pH 8.0), 20 мМ EDTA (pH 8.0)) и инкубировали в течение 2 ч при 56°C. После преципитации ДНК растворяли в 200 мкл бидистилированной воды.

Проверка качества выделения ДНК для всех образцов проводилась методом ПЦР с универсальными праймерами HCO/LCO (Folmer et al., 1994) к гену первой субъединицы цитохром *c*-оксидазы (*COI*). Для прошедших проверку образцов определяли статус инфицированности *Wolbachia*. Для анализа использовали праймеры, специфичные к гену *coxA* (Baldo et al., 2006). Определение гаплотипа *Wolbachia* проводилось путем секвенирования пяти генов системы мультилокусного типирования MLST (Baldo et al., 2006) для двух образцов *D. pini* и для пяти образцов *D. superans*: по одному из популяций Якутии 2013 г., Хабаровского края 2017 г. и Томской области 2017 г., и двух – из Томской области 2018 г. Помимо этого, нами был получен полный профиль двух изолятов *Wolbachia* из популяции Хабаровского края 2014 и 2016 гг., для которых в предыдущей работе были проанализированы только два локуса MLST (Юдина и др., 2017). Очистка ампликонов для секвенирования проводилась с помощью экзонуклеазы I *E. coli* (New England Biolabs). Очищенные ампликоны секвенировали с использованием набора для секвенирования BrightDye Terminator sequencing kit (Nimagen). Полученные секвенограммы анализировали с помощью программы FinchTV v. 1.4.0. (Geospiza Inc.). Выравнивание нуклеотидных последовательностей изолятов *Wolbachia* проводили с использованием программ BioEdit v. 7.0.5.3 и MEGA6. Филогенетический анализ *Wolbachia* проводили в программе MEGA6 с использованием модели нуклеотидных замен GTR и бутстрепом 1000 итераций. Статистическую обработку результатов проводили для выборок объемом ≥10 образцов в программе MS Excel 2013 (Microsoft Corporation) с приложением AtteStat 12.0.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* выявлена во всех регионах сбора *D. superans*, уровень инфицированности варьировал от 69 до 100% (табл. 1). Не выявлено различий в частотах инфи-

Таблица 1. Встречаемость *Wolbachia* в популяциях *Dendrolimus superans* и *D. pini*

Регион, локация	Год	Размер выборки	Число инфицированных /% инфицированных*/95% ДИ**
Dendrolimus superans			
Якутия, с. Мырыла	1999	6	5
Якутия, г. Покровск	1999	5	4
Якутия, с. Борогонцы	2000	2	2
Якутия, г. Покровск	2000	1	1
Якутия, с. Тёхтюр	2001	7	7
Якутия, с. Матта	2002	13	9/69/39–91
Якутия, г. Якутск, Намцырский тракт	2013	12	10/83/52–98
Хабаровский край, Большехехцирский заповедник***	2014	9	9
Хабаровский край, Большехехцирский заповедник***	2016	31	28/90/74–98
Хабаровский край, Большехехцирский заповедник	2016	3	2
Хабаровский край, Ботчинский заповедник	2016	4	0
Хабаровский край, Большехехцирский заповедник	2017	64	61/93.8/86.9–99.0
Хабаровский край, Большехехцирский заповедник	2018	38	33/86.8/72.0–95.6
Томская обл., Кривошеинский р-н	2017	13	13/100/75–100
Томская обл., Колпашевский р-н	2017	15	15/100/78–100
Томская обл., г. Томск	2018	11	10/91/58–100
Dendrolimus pini			
Калининградская обл.	2018	9	5

Примечания. * – процент инфицированных особей указан для выборок $N \geq 10$; ** – 95% доверительный интервал (ДИ) рассчитывался методом Клоппера–Пирсона для выборок $N \geq 10$; *** – данные из работы М.А. Юдиной с соавт. (2017).

цированности между выборками 2002 и 2013 гг. сбора из Якутии (точный тест Фишера, $P = 0.64$), Томской области (критерий χ-квадрат Пирсона, $P = 0.271$) и Хабаровского края (критерий χ-квадрат Пирсона, $P = 0.308$), с учетом данных из работы М.А. Юдиной и соавт. (2017). При сравнении регионов в Томской области инфицированность оказалась достоверно выше, чем в Хабаровском крае и Якутии (критерий χ-квадрат Пирсона, $P = 0.013$). Кроме того, мы проверили наличие симбионта *Wolbachia* у соснового коконопряда *D. pini*, который является близким к *D. superans* видом и также характеризуется широким ареалом, в значительной степени перекрывающимся с ареалом сибирского шелкопряда. Образцы *D. pini* были собраны в регионе, где эти два вида вместе не встречаются, а именно в Калининградской области. У нескольких образцов в выборке соснового коконопряда мы выявили симбионта *Wolbachia* (табл. 1).

Мы охарактеризовали гаплотипические профили *Wolbachia* у *D. superans* и *D. pini*. Два гаплотипа обнаружено у *D. superans*, ST-41 и ST-353, при этом в Томской области и Хабаровском крае выявлены оба варианта, а в Якутии только ST-353. У *D. pini* выявлен ST-41. Эти гаплотипы близки, оба относятся к супергруппе B (рис. 1) и встречаются также у других видов чешуекрылых (Ilinsky, Kosterin, 2017).

Стоит отметить, что в Хабаровском крае гаплотип ST-353 был выявлен в выборках 2016 и 2017 гг., тогда как ST-41 обнаружен в выборке 2014 г. Аналогичная ситуация наблюдается для гаплотипов в Томской области: ST-353 обнаружен в популяции 2017 г., тогда как ST-41 выявлен в выборке 2018 г.

Поскольку *Wolbachia* сонаследуется с мтДНК хозяина, мы провели анализ участка гена *COI* для образцов *D. superans* из Томской области с разными гаплотипами симбионта. Также в анализ были взяты последовательности гена *COI* из баз данных GenBank (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/) и BOLD (http://www.boldsystems.org/) для *D. superans* из Монголии и Японии (рис. 2).

Проведенный анализ показал, что выявленные нами гаплотипы мтДНК *D. superans* (номера GenBank: MT373807, MT373808) генетически очень близки между собой и отличаются только одной синонимичной нуклеотидной заменой в позиции 35T/C относительно последовательности GenBank № JN602815, а также близки к гаплотипам, выявленным в популяциях Монголии. Таким образом, мы наблюдаем присутствие двух разных гаплотипов *Wolbachia* у образцов *D. superans*

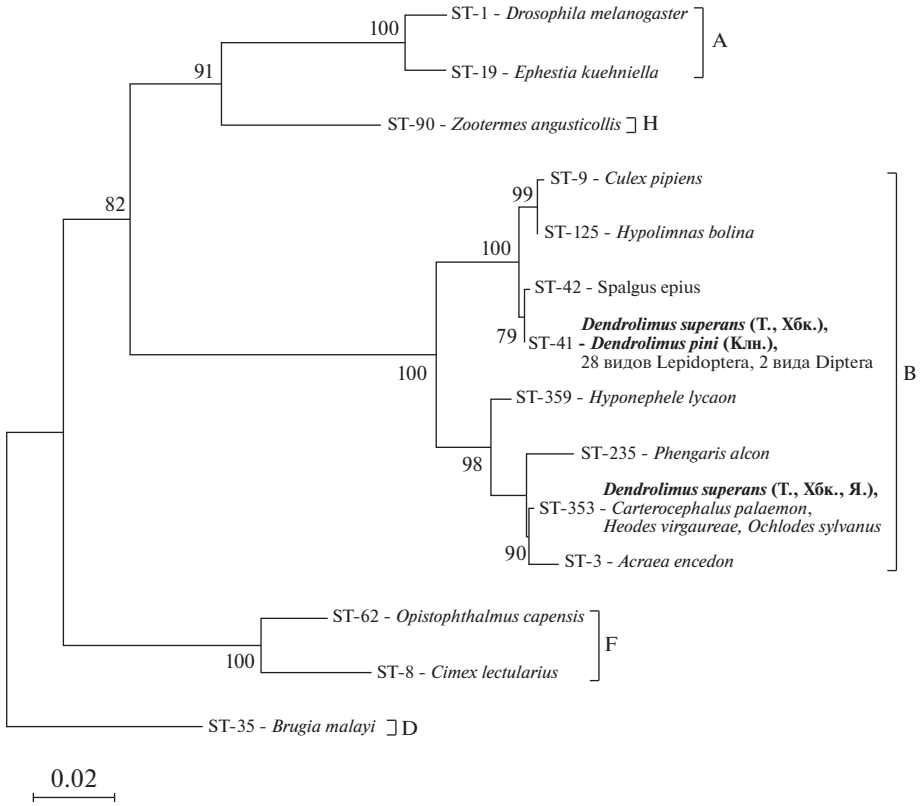

Рис. 1. Филогенетическое дерево гаплотипов *Wolbachia*, построенное методом максимального правдоподобия на основании конкатенированных последовательностей пяти генов MLST (*gatB*, *coxA*, *hcpA*, *ftsZ*, *fbpA*). Указаны номера гаплотипов (ST), супергруппы и виды-хозяева *Wolbachia*. **Жирным** шрифтом выделены гаплотипы из данного исследования, в скобках указаны регионы сбора: Т. – Томская область, Хбк. – Хабаровский край, Я. – Якутия, Клн. – Калининградская область.

с филогенетически близкими вариантами мтДНК.

ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе мы провели скрининг популяций *D. superans* из трех регионов России на присутствие бактерии *Wolbachia*, а также впервые приводим данные о наличии симбионта у *D. pini*. Ранее нами было показано, что в популяциях сибирского шелкопряда Хабаровского края уровни инфицированности *Wolbachia* крайне высокие (Юдина и др., 2017). Здесь мы констатируем высокую частоту встречаемости *Wolbachia* в удаленных локалитетах ареала *D. superans*. Несмотря на разделяющие популяции расстояния и, соответственно, разные условия обитания популяций, мы везде наблюдаем стабильно высокую инфицированность, поддерживающуюся в течение продолжительного времени. В ходе исследования инфицированности и генетического разнообразия *Wolbachia* в популяциях *Drosophila melanogaster* на обширной территории Палеарктики показано, что в некоторых регионах популяции возобновляются после холодных сезонов, и в них поддерживается уровень инфицированности и генетический состав *Wolbachia* (Bykov et al., 2019). При этом для *D. melanogaster* не выявлено значимого влияния симбионта на биологию хозяина. В случае *D. superans* высокий уровень инфицированности может быть связан с возможным положительным влиянием симбионта на биологию и/или приспособленность хозяина, а также с наличием индуцируемых бактерией репродуктивных аномалий, способствующих распространению инфекции (Charlat et al., 2007; Narita et al., 2007; Graham, Wilson, 2012; Arai et al., 2019). Однако данных о каком-либо влиянии *Wolbachia* на *D. superans* в литературе к настоящему моменту нет.

Одинаково также генетическое разнообразие *Wolbachia* в исследованных регионах. В данном исследовании два гаплотипа *Wolbachia*, ST-41 и ST-353, выявлены в выборках Томской области, а в Хабаровском крае и Якутии обнаружен только ST-353. Дополнительно мы получили полные профили для двух изолятов *Wolbachia*, выявленных нами ранее в популяциях *D. superans* Хабаровского края (Юдина и др., 2017), один соответствовал ST-41, а второй – ST-353. Нельзя исключать, что в популяциях *D. superans* Якутии также

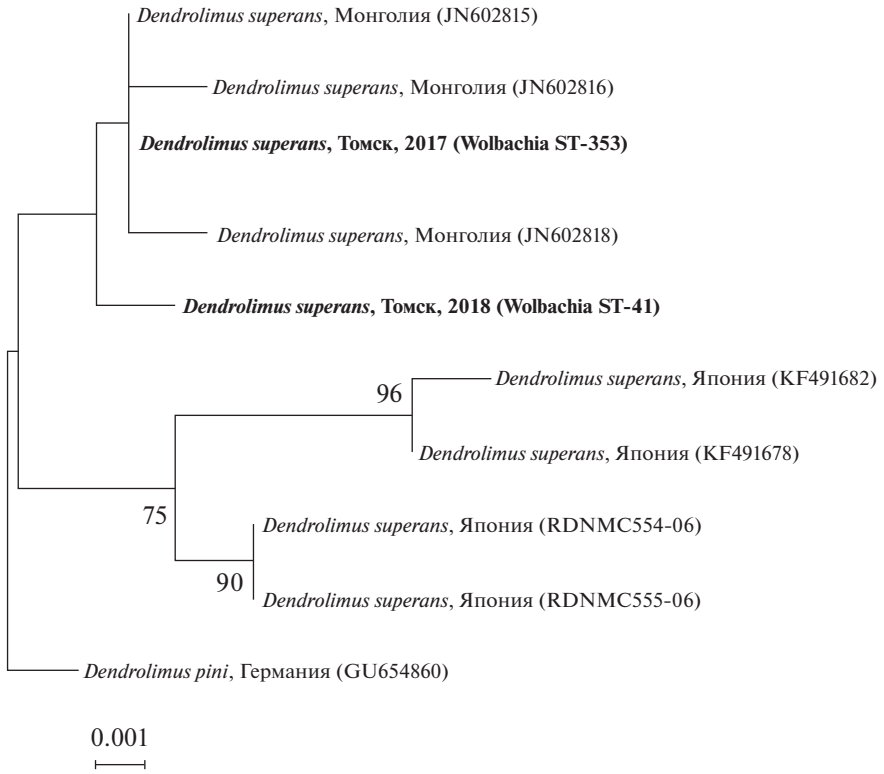

Рис. 2. Филогенетическое дерево мтДНК *D. superans*, построенное методом максимального правдоподобия на основании участка гена *COI* размером 623 п.н. Для последовательностей из баз данных GenBank и BOLD указаны регионы сбора и номера в базе данных (в скобках). Последовательности, полученные в данной работе, выделены **жирным** шрифтом, для них указаны гаплотипы *Wolbachia* (в скобках).

присутствует гаплотип ST-41, но он не был выявлен в силу недостаточного числа проанализированных образцов. Остается вопросом, одинаково ли соотношение данных гаплотипов бактерии в популяциях *D. superans* или существует динамика частот во времени. Так, в Хабаровском крае мы выявили гаплотип ST-353 в выборках 2016 и 2017 гг., а ST-41 – в выборке 2014 г. В Томской области ST-353 обнаружен в 2017 г., тогда как ST-41 выявлен в выборке 2018 г. С одной стороны, это может быть связано с недостаточным количеством проанализированных образцов и на самом деле во всех выборках присутствуют оба гаплотипа одновременно. С другой стороны, нельзя исключать возможности временной динамики *Wolbachia*, которая может быть связана с динамикой популяций хозяина. Так, при исследовании инфицированности *Wolbachia* у лугового мотылька *Loxostege sticticalis* было обнаружено, что при снижении численности популяции частота встречаемости *Wolbachia* падала, а в период вспышки численности – возрастала (Malysh et al., 2020). Ранее мы обсуждали возможное влияние двух генетических вариантов *Wolbachia* на популяционную динамику *D. superans* (Юдина и др., 2017). Сосуществование разных гаплотипов может привести как к снижению репродуктивного потенциала популяции, так и к вспышке численности.

Известно, что *Wolbachia* в силу материнского типа наследования ассоциирована с мтДНК вида-хозяина (Marcade et al., 1999; Mercot, Charlat, 2004; Shoemaker et al., 2004; Graham, Wilson, 2012; Ilinsky, 2013; Chen et al., 2017). В случае *D. superans* мы обнаружили, что образец, содержащий *Wolbachia* гаплотипа ST-41, имеет гаплотип мтДНК с уникальной нуклеотидной заменой, не имеющей аналогов в базах данных. При этом для ST-353 гаплотип мтДНК не является уникальным и соответствует гаплотипам, выявленным у *D. superans* из Монголии. Дальнейшие исследования полиморфизма мтДНК и *Wolbachia* у сибирского шелкопряда должны дать ответ на вопрос об ассоциации гаплотипа ST-41 с выявленным нами гаплотипом мтДНК.

Несмотря на то, что ST-41 и ST-353 близки, относятся к одной супергруппе и им соответствуют генетически близкие гаплотипы мтДНК *D. superans*, мы не рассматриваем возможность их дивергенции у видов р. *Dendrolimus*, поскольку ST-41 встречается у многих других видов Lepidoptera, и ST-353 также выявлен у некоторых представителей чешуекрылых (Ilinsky, Kosterin, 2017). В связи

с этим можно предположить возможность горизонтального переноса этих гаплотипов *Wolbachia*. Однако данная гипотеза требует отдельного изучения.

Таким образом, в ходе проведенного исследования нами показаны стабильные частоты встречаемости и одинаковый генетический состав *Wolbachia* в географически удаленных популяциях сибирского шелкопряда. Эти данные указывают на глубокую интеграцию симбионта в жизненный цикл вида-хозяина, что требует дальнейших исследований симбиотической системы "*Wolbachia*–*D. superans*". Обнаружение у образцов *D. superans* с генетически близкими гаплотипами мтДНК двух вариантов *Wolbachia*, распространенных и у других видов чешуекрылых, может указывать на возможность существования внутри- или межвидового горизонтального переноса симбионта.

Поддержано РФФИ, проекты № 18-316-00099 и № 19-04-00983; а также БП № 0324-2019-0041.

Авторы выражают благодарность к. б. н. Даниловой М.В. за техническую помощь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гродницкий Д.Л., 2004. Сибирский шелкопряд и судьба пихтовой тайги // Природа. № 11. С. 49–56.

Золотухин В.В., 2015. Коконопряды (Lepidoptera: Lasiocampidae) фауны России и сопредельных территорий. Ульяновск: Корпорация технологий продвижения. 380 с.

Золотухин В.В., 2019. Lasiocampidae // Каталог чешуекрылых (Lepidoptera) России / Под ред. Синева С.Ю. 2-е изд. СПб.: ЗИН РАН. С. 281–284.

Рожков А.С., 1963. Сибирский шелкопряд. Систематическое положение, филогения, распространение, экономическое значение, строение и образ жизни. М.: Изд-во АН СССР. 176 с.

Юдина М.А., Дубатолов В.В., Быков Р.А., Илинский Ю.Ю., 2017. Симбиотическая бактерия *Wolbachia* в популяциях вредителя хвойных лесов *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae) // Вавиловский журнал генетики и селекции. Т. 20. № 6. С. 899–903.

Arai H., Hirano T., Akizuki N., Abe A., Nakai M. et al., 2019. Multiple infection and reproductive manipulations of *Wolbachia* in *Homona magnanima* (Lepidoptera: Tortricidae) // Microb. Ecol. V. 77. № 1. P. 257–266.

Baldo L., Dunning Hotopp J.C., Jolley K.A., Bordenstein S.R., Biber S.A. et al., 2006. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis* // Appl. Environ. Microbiol. V. 72. № 11. P. 7098–7110.

Baranchikov Y.N., Kondakov Y.P., Gottschalk K., Fosbroke S., 1997. Outbreaks of the Siberian moth *Dendrolimus superans sibiricus* Tschtwrk in central Siberia // Proc. USDA Interagency Gypsy Moth Forum. USDA Forest Service. NEFES, Gen. Tech. Rep. NE-240. P. 10–13.

Bykov R.A., Yudina M.A., Gruntenko N.E., Zakharov I.K., Voloshina M.A. et al., 2019. Prevalence and genetic diversity of *Wolbachia* endosymbiont and mtDNA in Palearctic populations of *Drosophila melanogaster* // BMC Evol. Biol. V. 19. № 1. P. 45–53.

Cattel J., Martinez J., Jiggins F., Mouton L., Gibert P., 2016. *Wolbachia*-mediated protection against viruses in the invasive pest *Drosophila suzukii* // Insect Mol. Biol. V. 25. № 5. P. 595–603.

Charlat S., Engelstadter J., Dyson E.A., Hornett E.A., Duplouy A. et al., 2006. Competing selfish genetic elements in the butterfly *Hypolimnas bolina* // Curr. Biol. V. 16. № 24. P. 2453–2458.

Charlat S., Hornett E.A., Fullard J.H., Davies N., Roderick G.K. et al., 2007. Extraordinary flux in sex ratio // Science. V. 317. № 5835. P. 214.

Chen F., Coates B., He K.L., Bai S.X., Zhang T.T., Wang Z.Y., 2107. Effects of *Wolbachia* on mitochondrial DNA variation in populations of *Athetis lepigone* (Lepidoptera: Noctuidae) in China // Mitochondrial DNA A. V. 28. № 6. P. 826–834.

Barro P.J., de, Hart P.J., 2001. Antibiotic curing of parthenogenesis in *Eretmocerus mundus* (Australian parthenogenic form) // Entomol. Exp. Appl. V. 99. № 2. P. 225–230.

Dedeine F., Vavre F., Fleury F., Loppin B., Hochberg M.E., Boulétreau M., 2001. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 98. № 11. P. 6247–6252.

Dong P., Wang J.J., Hu F., Jia F.X., 2007. Influence of *Wolbachia* infection on the fitness of the stored-product pest *Liposcelis tricolor* (Psocoptera: Liposcelididae) // J. Econ. Entomol. V. 100. № 4. P. 1476–1481.

Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates // Mol. Mar. Biol. Biotechnol. V. 3. № 5. P. 294–299.

Graham R.I., Wilson K., 2012. Male-killing *Wolbachia* and mitochondrial selective sweep in a migratory African insect // BMC Evol. Biol. V. 12. № 1. P. 204.

Han X., Lu C., Geib S.M., Zheng J., Wu S. et al., 2019. Characterization of *Dendrolimus houi* Lajonquiere (Lepidoptera: Lasiocampidae) transcriptome across all life stages // Insects. V. 10. № 12. P. 442.

Hiroki M., Tagami Y., Miura K., Kato Y., 2004. Multiple infection with *Wolbachia* inducing different reproductive manipulations in the butterfly *Eurema hecabe* // Proc. R. Soc. Lond. B. V. 271. № 1549. P. 1751–1755.

Hosokawa T., Koga R., Kikuchi Y., Meng X.Y., Fukatsu T., 2010. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist // Proc. Natl. Acad. Sci. V. 107. № 2. P. 769–774.

Ilinsky Y., 2013. Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes // PLoS One. V. 8. № 1. P. e54373.

Ilinsky Y., Kosterin O.E., 2017. Molecular diversity of *Wolbachia* in Lepidoptera: Prevalent allelic content and high recombination of MLST genes // Mol. Phylogenet. Evol. V. 109. P. 164–179.

Kirichenko N.I., Baranchikov Y.N., Vidal S., 2009. Performance of the potentially invasive Siberian moth *Dendrolimus superans sibiricus* on coniferous species in Europe // Agric. Forest Entomol. V. 11. № 3. P. 247–254.

Kremer N., Voronin D., Charif D., Mavingui P., Mollereau B., Vavre F., 2009. *Wolbachia* interferes with ferritin expression and iron metabolism in insects // PLoS Pathog. V. 5. № 10. P. e1000630.

Malysh J.M., Malysh S.M., Kireeva D.S., Kononchuk A.G., Demenkova M.A., 2020. Detection of *Wolbachia* in larvae of *Loxostege sticticalis* (Pyraloidea: Crambidae) in European and Asian parts of Russia // Plant Prot. News. V. 103. № 1. P. 49–52.

Marcade I., Souty-Grosset C., Bouchon D., Rigaud T., Raimond R., 1999. Mitochondrial DNA variability and *Wolbachia* infection in two sibling woodlice species // Heredity. V. 83. № 1. P. 71–78.

Mariño Y.A., Rodrigues V., Jose C., Bayman P., 2017. *Wolbachia* affects reproduction and population dynamics of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*): Implications for biological control // Insects. V. 8. № 1. P. 8.

Mercot H., Charlat S., 2004. *Wolbachia* infections in *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: Polymorphism and levels of cytoplasmic incompatibility // Genetica. V. 120. P. 51–59.

Mikkola K., Ståhls G., 2008. Morphological and molecular taxonomy of *Dendrolimus sibiricus* Chetverikov stat.rev. and allied lappet moths (Lepidoptera: Lasiocampidae), with description of a new species // Entomol. Fennica. V. 19. № 2. P. 65–85.

Narita S., Kageyama D., Nomura M., Fukatsu T., 2007. Unexpected mechanism of symbiont-induced reversal of insect sex: Feminizing *Wolbachia* continuously acts on the butterfly *Eurema hecabe* during larval development // Appl. Environ. Microbiol. V. 73. P. 4332–4341.

Nouhuys S., van, Kohonen M., Duplouy A., 2016. *Wolbachia* increases the susceptibility of a parasitoid wasp to hyperparasitism // J. Exp. Biol. V. 219. № 19. P. 2984–2990.

Qin J., Li J., Gao Q., Wilson J.J., Zhang A.B., 2019. Mitochondrial phylogeny and comparative mitogenomics of closely related pine moth pests (Lepidoptera: *Dendrolimus*) // PeerJ. V. 7. P. e7317.

Salunkhe R.C., Narkhede K.P., Shouche Y.S., 2014. Distribution and evolutionary impact of *Wolbachia* on butterfly hosts // Indian J. Microbiol. V. 54. № 3. P. 249–254.

Shoemaker D.D., Dyer K.A., Ahrens M., McAbee K., Jaenike J., 2004. Decreased diversity but increased substitution rate in host mtDNA as a consequence of *Wolbachia* endosymbiont infection // Genetics. V. 168. № 4. P. 2049–2058.

Skrzecz I., Ślusarski S., Tkaczyk M., 2020. Integration of science and practice for *Dendrolimus pini* (L.) management – A review with special reference to Central Europe // For. Ecol. Manag. V. 455. P. 117697.

Teixeira L., Ferreira Á., Ashburner M., 2008. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster* // PLoS Biol. V. 6. № 12. P. e1000002.

Wilstermann A., Schrader G., Kinkar M., Vos S., 2020. Pest survey card on *Dendrolimus sibiricus* // EFSA Support. Publ. V. 17. № 1. P. 1779E.

High *Wolbachia* prevalence in populations of Siberian silk moth *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae) in the territory of Russia

R. A. Bykov[a, *], G. V. Yurlova[a], M. A. Demenkova[a], V. V. Dubatolov[b], I. A. Kerchev[b], A. P. Burnasheva[c], A. S. Ryabinin[a], E. S. Zakharov[c], A. P. Shapoval[d], Yu. Yu. Ilinsky[a, e]

[a] *Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of RAS*
Pr. Lavrentyeva, 10, Novosibirsk, 630090 Russia

[b] *Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch of RAS*
Frunze str., 11, Novosibirsk, 630091 Russia

[c] *Institute for Biological Problems of Cryolithozone, Siberian Branch of RAS*
Pr. Lenina, 41, Yakutsk, 677000 Russia

[d] *Biological Station "Rybachy", Zoological Institute of RAS*
Pobedy str., 32, Rybachy, Kaliningrad Region, 238535 Russia

[e] *All-Russian Plant Quarantine Center*
Pogranichnaya str., 32, Bykovo, Moscow Region, 140150 Russia

**e-mail: bykovra@bionet.nsc.ru*

Siberian silk moth *Dendrolimus superans sibiricus* is one of the dangerous pests of fir forests. Outbreaks of this species cause significant ecological and economic damage due to fir forests dying off. Previously, we found high *Wolbachia* prevalence in *D. superans* populations of Khabarovsk Krai. These maternally inherited symbionts of insects may be mutualists or reproductive parasites. Here we present data on *Wolbachia* prevalence and genetic diversity in populations of *D. superans* in Khabarovsk Krai, Yakutia, and Tomsk Region. We show that high *Wolbachia* infection rate (66–100%) is stable in geographically distant populations of the Siberian silk moth for several years. Genetic diversity of *Wolbachia* in *D. superans* populations of Tomsk Region and Khabarovsk Krai is represented by two haplotypes ST-41 and ST-353, and only ST-353 was found in Yakutia. High prevalence and similar genetic pattern of *Wolbachia* in *D. superans* populations in different regions probably indicative of deep integration of the symbiont in the biology of the Siberian silk moth.