

Симбиотическая бактерия *Wolbachia* в популяциях вредителя хвойных лесов *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae)

М.А. Юдина^{1, 2}, В.В. Дубатолов³, Р.А. Быков¹, Ю.Ю. Илинский^{1, 2} 

¹ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Россия

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский национальный исследовательский государственный университет», Новосибирск, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт систематики и экологии животных Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Сибирский шелкопряд – крайне опасный вредитель хвойных деревьев, в особенности лиственницы и различных видов сосен. Вспышки численности сибирского шелкопряда приводят к дефолиации и гибели лесов на обширных площадях в азиатской части Российской Федерации. Многие биологические агенты, такие как вирусы, патогенные микроорганизмы и паразитоиды, сдерживают рост популяции вредителя. В данной работе рассмотрен непатогенный симбиотический микроорганизм *Wolbachia*, который передается от особи к особи трансвариально и может оказывать серьезное влияние на биологию вида-хозяина. Потенциально *Wolbachia* может как сдерживать, так и стимулировать рост популяции вредителя, что и определяет ключевой интерес исследования. Две выборки сибирского шелкопряда, собранные в 2014 и 2016 гг. в Хабаровском крае, были исследованы на присутствие *Wolbachia*. Обнаружена высокая частота инфицированных особей сибирского шелкопряда. Доля носителей эндосимбионта в 2014 г. составила 100 % и в 2016 г. – 90 %. Кроме того, в исследованной популяции сибирского шелкопряда на основании протокола мультилокусного генотипирования по генам *ftsZ* и *fbpA* обнаружено присутствие по меньшей мере двух штаммов *Wolbachia*, характеризующихся аллельными вариантами *ftsZ-36*, *fbpA-4* и *ftsZ-22*, *fbpA-9*. В статье обсуждается возможная роль *Wolbachia* в симбиотической ассоциации с сибирским шелкопрядом и направления дальнейших исследований.

Ключевые слова: сибирский шелкопряд; *Dendrolimus superans sibiricus*; *Wolbachia*; симбиоз; популяция; ПЦР.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Юдина М.А., Дубатолов В.В., Быков Р.А., Илинский Ю.Ю. Симбиотическая бактерия *Wolbachia* в популяциях вредителя хвойных лесов *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2016;20(6):899-903. DOI 10.18699/VJ16.208

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Yudina M.A., Dubatolov V.V., Bykov R.A., Ilinsky Yu.Yu. *Wolbachia* infection in populations of the coniferous forest pest *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae). Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2016;20(6):899-903. DOI 10.18699/VJ16.208


ORIGINAL ARTICLE

Received 03.11.2016

Accepted for publication 16.12.2016

© AUTHORS, 2016

Wolbachia infection in populations of the coniferous forest pest *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae)

M.A. Yudina^{1, 2}, V.V. Dubatolov³, R.A. Bykov¹, Yu.Yu. Ilinsky^{1, 2} 

¹ Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

² Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

³ Institute of Systematics and Ecology of Animals SB RAS, Novosibirsk, Russia

Siberian silk moth (*Dendrolimus superans sibiricus*) is a very dangerous pest of coniferous trees, in particular, larch and various pine species. Outbreaks of this pest lead to defoliation and forest destruction in a vast area of the Asian part of Russia. Many biological agents, such as viruses, pathogenic microorganisms and parasitoids, prevent the growth of Siberian silk moth population. Here we consider non-pathogen symbiotic *Wolbachia* bacteria, which are transovarially transmitted between specimens from mother to offspring. This symbiont has an ability to affect biology of its host. In theory, *Wolbachia* can prevent the growth of population size or induce it, which determines the focus of interest in *Wolbachia*-host investigation. Two samples from a Siberian silk moth population collected in 2014 and 2016 in Khabarovsk area were studied for *Wolbachia* infection. We found a high *Wolbachia* prevalence in the population of Siberian silk moth, in particular, the sample of 2014 was totally infected and the sample of 2016 had 90 % infected specimens. There were at least two distinct *Wolbachia* strains revealed by analysis of two loci from the MLST protocol, namely *ftsZ-36*, *fbpA-4* and *ftsZ-22*, *fbpA-9*. In this study, a possible role of *Wolbachia* in the symbiotic association with Siberian silk moth and general ways of investigation of this symbiosis are discussed.

Key words: Siberian silk moth; *Dendrolimus superans sibiricus*; *Wolbachia*; symbiosis; population; PCR.

Сибирский шелкопряд (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908) – аборигенный обитатель хвойных лесов Северной Азии. Ареал этого вида простирается по лесной зоне от берегов Тихого океана до востока европейской части РФ (Gninenko, Orlinskii, 2002; Золотухин, 2015). Южная граница ареала проходит с запада примерно по 55-й параллели до рек Иртыш и Обь, отсюда вид распространен по всей лесной и лесостепной зоне Северо-Восточного Казахстана, Северной Монголии, северо-западных и северо-восточных провинций Китая, включая территорию Джунгарского Алатау, Внутренней Монголии (Nei Mongol), Хэбэя (Hebei) и Шаньдуна (Shandong), а также на Корейском полуострове. Номинативный подвид *Dendrolimus superans superans* (Butler, 1881) распространен на юге Сахалина (на севере острова обитает *D. s. sibiricus*), Южных Курилах и в Японии до о. Хонсю включительно (Золотухин, 2015). Недавно сибирскому подвиду был присвоен видовой статус (Mikkola, Stahls, 2008) на основании молекулярных исследований ядерных и митохондриальных генов. Тем не менее из-за отсутствия каких-либо морфологических различий В.В. Золотухин (2015) считает *D. s. sibiricus* и *D. s. superans* не более чем территориально разобщенными подвидами одного вида.

Кормовой базой сибирского шелкопряда обычно служат различные виды деревьев семейства Pinaceae, прежде всего лиственница, которая наиболее сильно повреждается насекомым. Также гусеницы питаются хвоей разных видов сосен (включая *Pinus sibirica* и *P. koraiensis*), пихт и елей (Рожков, 1963). По вредоносному воздействию на массивы лиственничных и кедровых лесов Сибири сибирский шелкопряд занимает первое место. Вспышки численности этого вида приводят к дефолиации хвойных лесов и нередко к их гибели на обширных площадях, что наносит колоссальный экономический урон. По данным современных учетов, на территории России площадь усохших в результате размножения сибирского шелкопряда лесов составляет более 10 млн га (Рожков, 1965; Кондаков 2002; Колтунов, Ермаков, 2013). Обычно гусеницы сибирского шелкопряда зимуют два раза, но на севере ареала – три раза, на юге – один раз (Рожков, 1963), а номинативный подвид в Японии дает два поколения за год (Золотухин, 2015).

Вспышки численности сибирского шелкопряда могут быть непродолжительными, всего один-три сезона, после чего наступает сильная депрессия популяции вследствие стремительно возросшего груза насекомых-паразитов, вирусов и патогенных микроорганизмов. Однако даже одного сезона активного действия сибирского шелкопряда может быть достаточно для гибели леса, поскольку ослабленные деревья в последующие годы становятся восприимчивыми к пагубному влиянию стволовых вредителей, которые окончательно губят растение и приводят древесину в полную непригодность для хозяйственного использования.

Возрастание численности сибирского шелкопряда связано со стечением разных факторов. Например, весенние пожары лесной подстилки уничтожают одного из главных регуляторов численности сибирского шелкопряда – яйцеда рода *Telenomus* (Гродницкий, 2004). Иногда после

теплых сезонов гусеницы успевают развиваться за один год вместо двух лет (Гродницкий, 2004), что приводит к увеличению эффективного размера популяции. Засушливые сезоны снижают нагрузку грибного энтомопатогена *Beauveria bassiana* на сибирского шелкопряда, поскольку для гриба высокая влажность является оптимальным условием развития (Huaifeng et al., 1998).

В настоящей работе мы обратились к вопросу о присутствии непатогенного микроорганизма *Wolbachia* в популяциях сибирского шелкопряда. *Wolbachia* – бактериальный внутриклеточный симбионт членистоногих и нематод, который является факультативным компонентом генома макросимбионта, поскольку передается от особи к особи строго по материнской линии параллельно с митохондриями. Этот симбионт глубоко интегрирован в биологию своих хозяев. Некоторым видам-хозяевам *Wolbachia* обеспечивает метаболическую комплементацию, тем самым повышая конкурентоспособность инфицированных особей. *Wolbachia* влияет на репродуктивную биологию макросимбионтов, в частности может как увеличивать, так и сокращать репродуктивный потенциал особей в популяции. На популяционном уровне присутствие *Wolbachia* может оказывать влияние на генетическое разнообразие вида (Werren et al., 2008; Zabal-Aguirre et al., 2010).

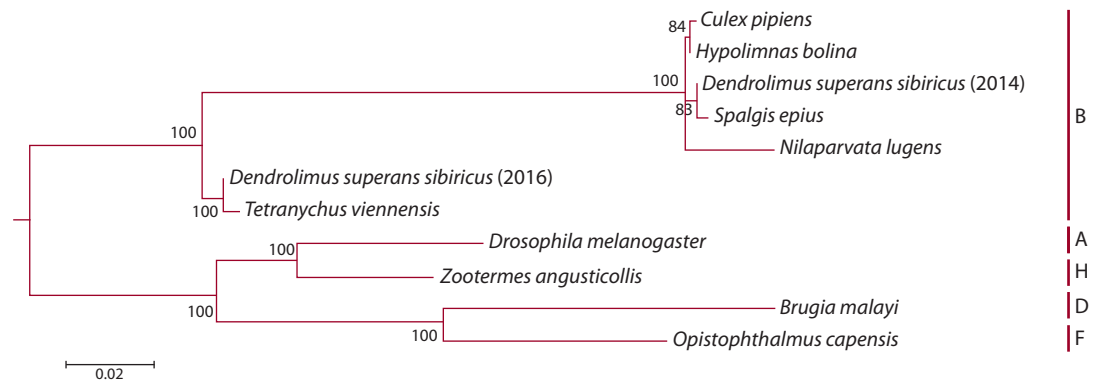
Материалы и методы

Коллекция насекомых. Насекомые собраны в 2014 ($n = 9$) и 2016 гг. ($n = 32$) на территории Большехежирского заповедника (с. Бычиха, 48°17.9' с. ш., 134°49.3' в. д. и нижнее течение руч. Соснинский, 48°16.2' с. ш., 134°46.3' в. д.) в окрестностях г. Хабаровска и хранились на энтомологических матрасиках при комнатной температуре до выделения ДНК. Вся выборка, за исключением одной особи, представлена самцами.

Выделение ДНК и экспериментальные процедуры. Из каждой особи выделяли ДНК отдельно из брюшка и ноги. Это было сделано для того, чтобы, во-первых, оценить сохранность ДНК в музейных образцах и таким образом дать рекомендации по выделению ДНК, и, во-вторых, сопоставить представленность вольбахии в соматических и репродуктивных тканях, т. е. определить релевантность использования конечностей для выявления *Wolbachia* у сибирского шелкопряда.

Процедура выделения ДНК включала инкубацию образца в экстрагирующем буфере и последующую ее очистку (Илинский и др., 2013). Пригодность полученной тотальной ДНК проверяли посредством ПЦП с праймерами к гену насекомых *28S rRNA* (Choudhury, Werren, 2006). Статус инфицированности устанавливали амплификацией с вольбахия-специфичными праймерами к бактериальному гену *16S rRNA* (Werren, Windsor, 2000). Нарботку ампликонов генов мультилокусного типирования и их секвенирование проводили согласно рекомендациям базы данных PubMLST (pubmlst.org/wolbachia) и (Baldo et al., 2006).

Для реконструкции филогенетических взаимоотношений выявленных в данной работе штаммов *Wolbachia* использовали конкатенированные последовательности локусов *ftsZ* и *fbpA* *Wolbachia* (864 п. н.). Кроме того, из базы данных PubMLST были извлечены последователь-



Phylogenetic relationships among *Wolbachia* strains reconstructed by the maximum likelihood method based on concatenated sequences of the *ftsZ* and *fbpA* loci (864 bp.).

Bootstrap values exceeding 75 are indicated above the corresponding branches. *Wolbachia* host species and supergroups are shown.

ности аллелей этих генов от других штаммов *Wolbachia*, наиболее близких к обнаруженным нами изолятам симбионта. Нуклеотидные последовательности выбранных генов были выравнены друг относительно друга с помощью алгоритма Muscle (Edgar, 2004) на онлайн-сервисе <http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/muscle/>. Филогенетический анализ проводили с использованием метода максимального правдоподобия и с применением Тамура-трехпараметрической модели нуклеотидных замен, входящих в пакет программ MEGA 6 (Tamura et al., 2013). Достоверность ветвления оценивалась посредством бутстреп-анализа, который состоял из 1000 итераций.

Результаты

Качество ДНК, выделенной из музейных образцов сибирского шелкопряда, как правило, было приемлемо для поиска симбиотической бактерии *Wolbachia* методом ПЦР. Ампликоны ядерного гена *28S rRNA* были получены для 76 из 82 образцов ДНК, из них 36 образцов были выделены из брюшка и 40 – из ног. Для одной особи *D. s. sibiricus* из сборов 2016 г. не удалось получить положительный сигнал на *28S rRNA* ни для ДНК, выделенной из ноги, ни для ДНК, выделенной из брюшка. Этот образец был исключен из анализа. Таким образом, выделение ДНК из ног более предпочтительно по сравнению с выделением ДНК из брюшка, что может быть связано с большей сохранностью ДНК в ногах (из-за их быстрого высыхания), а также с тем, что в брюшке содержится жировое тело, которое может быть источником загрязнений препарата ДНК, в том числе таких, которые способны ингибировать ПЦР.

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* обнаружена в популяционных сборах как 2014, так и 2016 г. В большинстве случаев результаты поиска эндосимбионта *Wolbachia* для препаратов ДНК, полученных из ног и брюшка, совпадали. Для тех образцов, где было найдено расхождение, нами проведена дополнительная проверка статуса инфицированности, а именно ПЦР с праймерами к локусам бактерии *fbpA* и *ftsZ*. Так, у 10 особей (27 %) бактерия выявлена только в экстрактах ДНК из брюшка, а у одной особи (2,7 %) – только в ноге. На отсутствие *Wolbachia* в соматических тканях и на мозаичное в целом

распределение симбионта в тканях организма указывалось и ранее (Dobson et al., 1999), поэтому отсутствие *Wolbachia* в ногах было вполне ожидаемым. Однако случай, когда не удалось выявить ДНК бактерии в брюшке, требует отдельных пояснений. Данный образец ДНК выделен из самца, а, как известно, самцы не участвуют в передаче *Wolbachia* следующему поколению. Вероятно, распределение бактерий в тканях организма самцов и самок одного вида различается, и репродуктивные органы этой конкретной особи не содержали или утратили *Wolbachia*. Еще одним объяснением данного факта может служить крайне низкая (в силу плохой сохранности внутренних органов образца) доля ДНК из репродуктивных тканей, что не позволило обнаружить *Wolbachia*. В целом можно заключить, что для работы с ДНК насекомого, выделяемой из воздушно-сухих музейных образцов, предпочтительно брать ногу, а для работы с ДНК матерински-наследуемых симбионтов желательно использовать брюшко, при этом образцы ДНК, полученные из ног, могут быть использованы как дополнительный материал для верификации результатов работы.

Частота инфицированности в выборке сибирского шелкопряда в 2014 г. составила 100 %, доверительный интервал для анализируемой популяции был 66.4–100 % ($p = 0.95$). В 2016 г. эти значения составили 90.3 ± 5.3 %, доверительный интервал 74.2–98.0 % ($p = 0.95$). Таким образом, частота встречаемости *Wolbachia* в популяции *D. s. sibiricus* Большехецирского заповедника находится на высоком уровне и составляет не менее 66 %.

Нами проведено типирование симбиотической бактерии *Wolbachia* для двух образцов, один из которых принадлежал выборке 2014 г., а второй – 2016 г. В результате обнаружено, что в популяциях сибирского шелкопряда присутствуют как минимум два генетических варианта *Wolbachia* (см. рисунок).

Вывленные аллельные варианты, согласно базе данных PubMLST, входят в состав нескольких гаплотипических профилей *Wolbachia*, которые принадлежат супергруппе В *Wolbachia*. Отметим, что штаммы, относимые к этой супергруппе, наиболее часто встречаются среди чешуекрылых насекомых (Salunke et al., 2012).

Обсуждение

Эндосимбионт *Wolbachia* широко распространен у дневных чешуекрылых (Ahmed et al., 2015, 2016). Сведения по другим семействам фрагментарны, большинство из них, особенно из группы Microlepidoptera, вовсе не изучены в отношении симбиоза с *Wolbachia*. Среди представителей семейства коконопрядов (Lasiocampidae) к настоящему времени известен только один инфицированный вид – *Dendrolimus spectabilis* (Tagami, Miura, 2004). Таким образом, в нашей работе впервые показано присутствие симбионта *Wolbachia* в аборигенных популяциях сибирского шелкопряда.

Выявленный нами высокий уровень инфицированности популяции *D. s. sibiricus*, по всей видимости, может указывать на то, что инфицированным особям благоприятствует отбор и/или что *Wolbachia* осуществляет манипуляцию репродукцией вида-хозяина, тем самым увеличивая численность инфицированных особей в популяции.

Известно, что *Wolbachia* может выступать облигатным симбионтом. Так, филярийные нематоды не способны нормально развиваться и размножаться без *Wolbachia* (Sunggratit, Nuchprayoon, 2010; McCall et al., 2014). У членистоногих облигатность *Wolbachia* описана для паразитической осы *Asobara tabida* (Dedeine et al., 2001; Kremer et al., 2009), сеноеда *Liposcelis tricolor* (Dong et al., 2007) и клопа *Cimex lectularius* (Hosokawa et al., 2010). У *Drosophila melanogaster* симбионт увеличивает продолжительность жизни мух в стрессовых условиях (Narcombe, Hoffmann, 2004; Вайсман и др., 2009), восстанавливает фертильность мутантных мух (Start, Cline, 2002) и определяет ряд других эффектов, повышающих приспособленность. Инфицированные *Wolbachia* самки комара *Aedes albopictus* оказываются более плодовитыми и имеют большую продолжительность жизни, чем неинфицированные особи (Dobson et al., 2002).

Репродуктивные манипуляции выражаются в форме таких феноменов, как цитоплазматическая несовместимость, андроцид, феминизация или телитокный партеногенез, и все указанные явления известны для чешуекрылых насекомых (Salunkhe et al., 2014). Последние три феномена характеризуются сдвигом соотношения полов в сторону преобладания самок. Мы не можем сделать заключение о соотношении полов для *D. s. sibiricus*, поскольку самцы этого вида летают значительно лучше, чем самки, вследствие чего самцы преобладают в сборах. Однако такую проверку возможно осуществить в будущем, учитывая, например, соотношения полов при лабораторном выведении бабочек из коконов.

В настоящее время мы не располагаем какими-либо сведениями о роли *Wolbachia* в популяции сибирского шелкопряда. Однако в свете накопленных данных о биологии других симбиотических ассоциаций вольбахия–хозяин представляется возможным обсудить гипотетические сценарии ассоциации вольбахия–сибирский шелкопряд и указать направления дальнейшего изучения этого симбиоза. Например, в случае, если для сибирского шелкопряда характерно проявление высокого уровня цитоплазматической несовместимости, крайне важное значение имеет мониторинг частот конкретных генетических вариантов *Wolbachia*. Сопоставимые частоты двух и более вариантов

Wolbachia в популяции в этом случае будут указывать на явление двунаправленной несовместимости, что выражается для вида в сокращении репродуктивного потенциала популяции. Сдвиг частот в сторону одного из генетических вариантов симбионта снижает вероятность несовместимых скрещиваний, что может привести к популяционному взрыву. Исключительно важными аспектами вовлеченности *Wolbachia* в биологию сибирского шелкопряда могут оказаться мутуалистические эффекты симбионта. Сибирский шелкопряд – аборигенный вид, который постоянно находится под грузом разнообразных паразитоидов и инфекций. Тем не менее регулярно в разных частях ареала его численность стремительно возрастает (Колтунов, Ермаков, 2013). В связи с этим необходимо учитывать, что матерински наследуемые симбионты, включая *Wolbachia*, в некоторых случаях способны защищать своих хозяев от вирусных инфекций (Teixeira et al., 2008; Osborne et al., 2009) и даже паразитоидов (van Nouhuys et al., 2016).

Род *Dendrolimus* включает около 30 палеарктических и северных индомалайских видов (Золотухин, 2015). Некоторые из них, например *D. pini* (Linnaeus, 1758), также являются вредителями лесных массивов. Информация о распространенности *Wolbachia* среди этих видов может способствовать изучению биологии симбиотической ассоциации *D. s. sibiricus*–*Wolbachia* и помочь в решении проблемы феномена взрыва численности популяций сибирского шелкопряда.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 16-04-00980, and State Budgeted Project 0324-2015-0004.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Ahmed M.Z., Araujo-Jnr E.V., Welch J.J., Kawahara A.Y. *Wolbachia* in butterflies and moths: geographic structure in infection frequency. *Frontiers Zoology*. 2015;12(1):1.
- Ahmed M.Z., Breinholt J.W., Kawahara A.Y. Evidence for common horizontal transmission of *Wolbachia* among butterflies and moths. *BMC Evol. Biol.* 2016;16(1):1.
- Baldo L., Dunning Hotopp J.C., Jolley K.A., Bordenstein S.R., Biber S.A., Choudhury R.R., Hayashi C., Maiden M.C., Tettelin H., Werren J.H. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2006;72(11):7098-7110.
- Choudhury R., Werren J.H. Unpublished primers. 2006. Available at <http://troi.cc.rochester.edu/~wob/FIBR/downloads.html#protocols>.
- Dedeine F., Vavre F., Fleury F., Loppin B., Hochberg M.E., Bouletreau M. Removing symbiotic *Wolbachia* bacteria specifically inhibits oogenesis in a parasitic wasp. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2001;98(11):6247-6252.
- Dobson S.L., Bourtzis K., Braig H.R., Jones B.F., Zhou W., Rousset F., O'Neill S.L. *Wolbachia* infections are distributed throughout insect somatic and germ line tissues. *Insect Biochem. Mol. Biology*. 1999;29(2):153-160.
- Dobson S.L., Marsland E.J., Rattanadechakul W. Mutualistic *Wolbachia* infection in *Aedes albopictus*: Accelerating cytoplasmic drive. *Genetics*. 2002;160:1087-1094.
- Dong P., Wang J.-J., Hu F., Jia F.-X. Influence of *Wolbachia* infection on the fitness of the stored-product pest *Liposcelis tricolor* (Psocoptera: Liposcelidae). *J. Econ. Entomol.* 2007;100(4):1476-1481.

- Edgar R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucl. Acids Res.* 2004;32(5):1792-1797.
- Gninenko Y.I., Orlinkii A.D. *Dendrolimus sibiricus* in the coniferous forests of European Russia at the beginning of the twenty-first century. *Eppo Bull.* 2002;32(3):481-483.
- Grodnitskiy D.L. Siberian silk moth and the fate of fir taiga. *Priroda = Nature.* 2004;11:49-56. (in Russian)
- Harcombe W., Hoffmann A.A. *Wolbachia* effects in *Drosophila melanogaster*: in search of fitness benefits. *J. Invertebrate Pathology.* 2004;87:45-50.
- Hosokawa T., Koga R., Kikuchi Y., Meng X.-Y., Fukatsu T. *Wolbachia* as a bacteriocyte-associated nutritional mutualist. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2010;107(2):769-774.
- Huafeng L.F., Meizhen L.Z., Cui H. Pathogenic effect of *Beauveria bassiana* infected on *Dendrolimus punctatus* under different temperature and humidity. *Chin. J. Appl. Ecol.* 1998;9:195-200.
- Ilinskiy Yu.Yu., Yudina M.A., Kalmykova Ye.A., Bykov R.A., Vysochina N.P., Vinarskaya N.P., Zakharov I.K. *Wolbachia* infection among fleas (Siphonaptera: Insecta) of Sverdlovsk region and Khabarovsk territory. *Ekologicheskaya genetika = Ecological genetics.* 2013;11(1):32-35. (in Russian)
- Koltunov E.V., Erdakov L.N. Features of the long-term cyclic occurrence of outbreaks of different Siberian moth (*Dendrolimus superans sibiricus* Tschetv.) populations in Siberia. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya = Modern Problems of Science and Education.* 2013;6. (in Russian)
- Kondakov Yu.P. Massovye razmnozheniya sibirskogo shelkopryada v lesah Krasnojarskogo kraja [Population booms of Siberian silk moth in the forests of the Krasnojarsk Krai]. *Entomologicheskie issledovaniya v Sibiri [Entomological Studies in Siberia].* Krasnojarsk, 2002;2:25-74. (in Russian)
- Kremer N., Voronin D., Charif D., Mavingui P., Mollereau B., Vavre F. *Wolbachia* interferes with ferritin expression and iron metabolism in insects. *PLoS Pathog.* 2009;5(10):e1000630.
- McCall J.W., Kramer L., Genchi C., Guerrero J., Dzimiński M.T., Mansour A., McCall S.D., Carson B. Effects of doxycycline on heartworm embryogenesis, transmission, circulating microfilaria, and adult worms in microfilaremic dogs. *Vet. Parasitol.* 2014;206(1): 5-13.
- Mikkola K., Stahls G. Morphological and molecular taxonomy of *Dendrolimus sibiricus* Chetverikov stat. rev. and allied lappet moths (Lepidoptera: Lasiocampidae), with description of a new species. *Entomol. Fennica.* 2008;19(2):65.
- Osborne S.E., Leong Y.S., O'Neill S.L., Johnson K.N. Variation in antiviral protection mediated by different *Wolbachia* strains in *Drosophila simulans*. *PLoS Pathog.* 2009;5(11):1-9.
- Rozhkov A.S. Sibirskiy shelkopryad [Siberian silk moth]. Moscow, AN SSSR Publ., 1963. (in Russian)
- Rozhkov A.S. Massovoe razmnozhenie sibirskogo shelkopryada i mery borby s nim [Population booms of Siberian silk moth and methods for controlling them]. Moscow, Nauka Publ., 1965. (in Russian)
- Salunke B.K., Salunke R.C., Dhotre D.P., Walujkar S.A., Khandagale A.B., Chaudhari R., Chandode R.K., Ghate H.V., Patole M.S., Werren J.H., Shouche Y.S. Determination of *Wolbachia* diversity in butterflies from Western Ghats, India, by a multigene approach. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012;78:4458-4467.
- Salunke R.C., Narkhede K.P., Shouche Y.S. Distribution and evolutionary impact of *Wolbachia* on butterfly hosts. *Indian J. Microbiol.* 2014;54(3):249-254.
- Starr D.J., Cline T.W. A host parasite interaction rescues *Drosophila* oogenesis defects. *Nature.* 2002;418:76-79.
- Sungradit S., Nuchprayoon S. *Wolbachia* of arthropods and filarial nematodes: biology and applications. *Chula Med. J.* 2010;54:605-621.
- Tagami Y., Miura K. Distribution and prevalence of *Wolbachia* in Japanese populations of Lepidoptera. *Insect Mol. Biol.* 2004;13(4): 359-364.
- Tamura K., Stecher G., Peterson D., Filipiński A., Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 2013;30:2725-2729.
- Teixeira L., Ferreira A., Ashburner M. The bacterial symbiont *Wolbachia* induces resistance to RNA viral infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* 2008;6(12):2753-2763.
- van Nouhuys S., Kohonen M., Duploup A. *Wolbachia* increases the susceptibility of a parasitoid wasp to hyperparasitism. *J. Exp. Biol.* 2016;219(19):2984-2990.
- Weisman N.Ya., Ilinskiy Yu.Yu., Golubovskiy M.D. Population genetic analysis of *Drosophila melanogaster* lifespan: similar effects of *Wolbachia* endosymbiont and tumor suppressor *lgl* under temperature stress. *Zhurnal obshchey biologii = Journal of General Biology.* 2009;70(5):425-434. (in Russian)
- Werren J.H., Windsor D. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proc. Roy. Soc. Lond.* 2000;267: 1277-1285.
- Werren J.H., Baldo L., Clark M.E. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature Rev. Microbiol.* 2008;6(10):741-751.
- Zabal-Aguirre M., Arroyo F., Bella J.L. Distribution of *Wolbachia* infection in *Chorthippus parallelus* populations within and beyond a Pyrenean hybrid zone. *Heredity.* 2010;104(2):174-184.
- Zolotukhin V.V. Kokonopryady (Lepidoptera: Lasiocampidae) fauny Rossii i sopedelnyh territoriy [Lasiocampidae (Lepidoptera) of Russia and adjacent territories]. Ulyanovsk, Korporatsiya tekhnologii proizvodstva Publ., 2015. (in Russian)