

© Ю.С. Токарев<sup>1</sup>,  
М.А. Юдина<sup>2,3</sup>, Ю.М. Малыш<sup>1</sup>,  
Р.А. Быков<sup>2</sup>, А.Н. Фролов<sup>1</sup>,  
И.В. Грушевая<sup>1</sup>,  
Ю.Ю. Илинский<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург;

<sup>2</sup>Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск;

<sup>3</sup>Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск

**В популяциях стеблевых мотыльков рода *Ostrinia* проведен анализ встречаемости эндосимбиотической бактерии рода *Wolbachia*. Пробы геномной ДНК экстрагированы из собранных в природе гусениц. ПЦР-анализ на присутствие *Wolbachia* проведен независимо по трем диагностическим локусам: *16SrRNA*, *gatB* и *fbpA*. Положительный сигнал для *Wolbachia* получен для 13,5 % гусениц *Ostrinia nubilalis* ( $N = 141$ ) и 31,9 % гусениц *Ostrinia scapularis* ( $N = 138$ ). В различных географических популяциях зараженность колебалась от 2,9 % ( $N = 34$ ) до 65,8 % ( $N = 38$ ), при этом в трех из четырех местообитаний наблюдался достоверно более высокий уровень зараженности *O. scapularis* в сравнении с *O. nubilalis*. Также обнаружено, что у *O. scapularis* бактерия *Wolbachia* чаще встречается у особей, питающихся на конопле, по сравнению с особями, собранными на полыни.**

✿ **Ключевые слова:** *Wolbachia*; чешуекрылые; стеблевые мотыльки; кормовые растения; молекулярно-генетическая диагностика.

Поступила в редакцию 19.12.2016  
Принята к публикации 20.03.2017

## ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ЭНДОСИМБИОТИЧЕСКОЙ БАКТЕРИИ РОДА *WOLBACHIA* В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ *OSTRINIA NUBILALIS* И *OSTRINIA SCAPULARIS* (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA: CRAMBIDAE) НА ЮГО-ЗАПАДЕ РОССИИ

### ВВЕДЕНИЕ

Эндосимбиотические бактерии рода *Wolbachia* Hertig относятся к классу альфа-протеобактерий, для которого известны разнообразные внутриклеточные симбионты многоклеточных эукариот, многие из которых патогенны для своих хозяев [1]. Важной особенностью этих эндоцитобионтов является строгий материнский тип наследования, что находит свое отражение в сопряженных изменениях генома бактерии и мтДНК клетки хозяина [2]. Бактерии рода *Wolbachia* не приводят к каким-либо выраженным патологическим процессам в природных популяциях беспозвоночных-хозяев, однако во многих случаях существенно влияют на их репродуктивную биологию. Для чешуекрылых описаны такие явления, как цитоплазматическая несовместимость, андроцид, феминизация генетических самцов [3], которые приводят к увеличению доли инфицированных самок в популяции. Известны примеры мутуалистических отношений между участниками симбиотической ассоциации. Например, *Wolbachia* обеспечивает метаболическую комплементацию у нематод [4]; супрессирует некоторые вредные мутации [5], повышает устойчивость к вирусным инфекциям [6] и положительно влияет на продолжительность жизни имаго у *Drosophila melanogaster* Meigen [7, 8].

В связи с этим представляет особый интерес исследование распространенности эндосимбионта *Wolbachia* в природных популяциях насекомых, в том числе сельскохозяйственных вредителей. Всесторонний анализ экзо- и эндогенных факторов, влияющих на популяционную динамику насекомых, позволит лучше понять механизмы, лежащие в основе регуляции их численности.

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* широко распространена у дневных бабочек [9], в то время как данные об инфицированности других семейств чешуекрылых носят фрагментарный характер [10–13].

Род стеблевых мотыльков *Ostrinia* Hübner (Lepidoptera: Pyraloidea: Crambidae) объединяет комплекс трудноразличимых близкородственных биологических рас и видов-двойников. Накоплено большое количество данных, свидетельствующих о своеобразии трофических связей видов и внутривидовых форм рода *Ostrinia* с кормовыми растениями, включая культивируемые виды однодольных (кукуруза, сорго, просо) и дикие виды двудольных (конопля, полынь, дурнишник). В частности, неотличимые по морфологическим признакам симпатрические популяции насекомых (известные ранее как расы), обитающие на двудольных и однодольных растениях во Франции и на Юго-Западе России, четко дифференцированы по целому ряду признаков, включая растения, предпочитаемые для откладки яиц, сроки вылета имаго после диапаузы, состав половых феромонов. Фертильность потомства от скрещивания особей из разных популяций резко снижена. В настоящее время эти популяции разделены на два вида, имеющие общее происхождение, — *Ostrinia scapularis* Muuturu et Monroe и *Ostrinia nubilalis* Hübner, первый из которых считается предковой формой, а второй сформировался в результате адапта-

ции к однодольным растениям [14]. Предполагается, что одним из факторов, повлиявших на процесс перехода насекомых с двудольных на однодольные растения, послужили перепончатокрылые наездники. Гусеницы, питающиеся кукурузой, меньше подвержены поражению наездниками за счет эффекта «пространства, свободного от паразитов» (enemy-free space) [15]. Еще одним гипотетическим фактором изоляции популяций может выступать матерински наследуемый симбионт *Wolbachia*, известный как репродуктивный паразит членистоногих [16]. В частности, в Японии *Wolbachia* обнаружена у *O. scapularis* и *Ostrinia furnacalis* Muutura et Monroe, у которых она оказывает существенное влияние на выживаемость и половую структуру потомства [17, 18]. Модель *Ostrinia-Wolbachia* широко используется для комплексных исследований биологических свойств симбионта и механизмов его взаимодействий с клеткой и организмом насекомых-хозяев [19–21]. Однако на популяционном уровне эта симбиотическая ассоциация практически не изучена.

В настоящей работе проведено сравнение встречаемости *Wolbachia* в популяциях *O. nubilalis* и *O. scapularis* Юго-Запада России.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для сравнительного анализа популяций двух близкородственных видов рода *Ostrinia* на зараженность *Wolbachia* использовали коллекционный биологический материал, представляющий собой экстракты геномной ДНК из гусениц последнего возраста, собранных в сентябре-октябре 2008 года в четырех географических точках: 1) хутор Слободка, Славянский район Краснодарского края; 2) город Славянск-на-Кубани Краснодарского

края; 3) поселок Ботаника, Гулькевичский район Краснодарского края; 4) поселок Майский, Белгородская область (рис. 1). Ранее экстракты геномной ДНК, полученные для указанных объектов, были использованы для микросателлитного анализа, результаты которого позволили обосновать принадлежность насекомых с однодольных и двудольных растений к двум близкородственным видам — *O. nubilalis* и *O. scapularis* соответственно [14]. С целью проверки качества используемых экстрактов было проведено их тестирование методом ПЦР с праймерами LepF1 (5'-ATTCAACCAATCATAAAGATATTGG-3'): LepR1 (5'-TAAACTTCTGGATGTCCAAAAATCA-3') [22] и 28sF3633 (5'-TACCGTGAGGGAAAGTTGAAA-3'): 28sR4076 (5'-AGACTCCTTGGTCCGTGTTT-3') [23], фланкирующими фрагменты гена первой субъединицы митохондриальной цитохромоксидазы COI и субъединицы 28S рибосомной РНК (рРНК) соответственно. Прошедшие тестирование образцы анализировались на присутствие эндосимбиотической бактерии *Wolbachia* по трем диагностическим локусам с праймерами W-Specf (5'-CATACCTATTCGAAGGGATAG-3'): W-Specr (5'-AGCTTCGAGTGAAACCAATTC-3') [24] к гену 16S рибосомной РНК (*16SrRNA*), gatBF1 (5'-GAKTTAAAYCGYGCAGGBGTT-3'): gatBR1 (5'-TGGYAAAYTCRGGYAAAGATGA-3') к гену субъединицы В аспартил-глутамил-тРНК аминотрансферазы (*gatB*) и fbpAF1 (5'-GCTGCTCCRCTTGGYWTGAT-3'): fbpAR1 (5'-CCRCCAGARAAAAYYACTATTC-3') [11] к гену фруктозобифосфатальдозазы (*fbpA*). Продукты ПЦР визуализировали в 1 % агарозном геле, размеры продуктов амплификации составляли 438, 470 и 509 п. н. соответственно для локусов *16SrRNA*, *gatB* и *fbpA*.

Оценку достоверности полученных данных проводили с использованием критерия хи-квадрат (с поправкой



Рис. 1. Места сбора насекомых в Краснодарском крае (1 — хутор Слободка; 2 — город Славянск-на-Кубани; 3 — поселок Ботаника) и Белгородской области (4 — поселок Майский)

Fig. 1. Locations of insect samples in Краснодар Territory (1 — hamlet Slobodka; 2 — town Slavyansk-na-Kubani; 3 — settlement Botanika) and Belgorod Territory (4 — settlement Mayskiy)

Йейтса) и точного теста Фишера в программе AtteStat v.12.0.5. для MS Excel 2013.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Эндосимбиотическая бактерия *Wolbachia* выявлена во всех проанализированных выборках *O. scapularis* и *O. nubilalis*, при этом доля зараженных насекомых варьировала в диапазоне 3–66 % (табл. 1). В западной части Краснодарского края (Славянский район) в двух точках сбора (х. Слободка и г. Славянск-на-Кубани) значения этого показателя для *O. nubilalis* достоверно не различались (точный тест Фишера,  $p = 0,596$ ). Для гусениц *O. scapularis*, собранных на полыни в Краснодарском крае, показатели встречаемости *Wolbachia* также достоверно не различались (точный тест Фишера,  $p = 1$ ). Однако в выборке *O. scapularis* с конопли было зафиксировано наиболее высокое значение зараженности, которое достоверно отличалось от указанных выше выборок. Если сравнивать частоту встречаемости *Wolbachia* у обоих видов *Ostrinia* в этом регионе,

то она достоверно выше у *O. scapularis* ( $N = 84$ ) по сравнению с *O. nubilalis* ( $N = 64$ ) (точный тест Фишера,  $p = 2,5 \cdot 10^{-6}$ ). В восточной части Краснодарского края (Гулькевичский район) и в Белгородской области статистически достоверных различий между популяциями двух видов насекомых не выявлено (точный тест Фишера,  $p = 0,761$  и  $p = 0,104$  соответственно). Однако мы отмечаем, что в Белгородской области зараженность гусениц *O. scapularis* была в два раза больше по сравнению с *O. nubilalis*.

При анализе выборок, обобщенных по таксономическому критерию (табл. 2), показано статистическое различие частот встречаемости *Wolbachia* у *O. scapularis* и *O. nubilalis* (критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса,  $p = 8,2 \cdot 10^{-4}$ ). Экологические свойства популяций *O. nubilalis* и *O. scapularis* во многом отличаются, поэтому различия в частотах зараженности паразитическими организмами вполне ожидаемы. Достоверно значимые различия отмечены и для выборок *O. scapularis*, собранных на разных кормовых растениях: зараженность насекомых, питающихся на конопле, в два раза выше, чем на полыни

Таблица 1

### Зараженность локальных популяций стеблевых мотыльков рода *Ostrinia* бактериями рода *Wolbachia* *Wolbachia* prevalence rates in local populations of corn borer of the *Ostrinia* genus

Место сбора насекомых	Кормовое растение	Количество насекомых		Зараженность, % $\pm$ ошибка %
		всего	заражено	
г. Славянск-на-Кубани, Славянский район, Краснодарский край	Кукуруза <sup>1</sup>	30	2	6,7 $\pm$ 4,6
	Полынь <sup>2</sup>	25	3	12,0 $\pm$ 6,5
х. Слободка, Славянский район, Краснодарский край	Кукуруза <sup>1</sup>	34	1	2,9 $\pm$ 2,9
	Полынь <sup>2</sup>	21	3	14,3 $\pm$ 7,7
	Конопля <sup>2</sup>	38	25	65,8 $\pm$ 7,7
п. Ботаника, Гулькевичский район, Краснодарский край	Кукуруза <sup>1</sup>	34	7	20,6 $\pm$ 7,0
	Конопля <sup>2</sup>	38	6	15,8 $\pm$ 6,0
п. Майский, Белгородский район, Белгородская область	Кукуруза <sup>1</sup>	43	9	20,9 $\pm$ 6,3
	Полынь <sup>2</sup>	16	7	43,8 $\pm$ 12,5

<sup>1</sup> *Ostrinia nubilalis*; <sup>2</sup> *Ostrinia scapularis*

Таблица 2

### Обобщенные данные по зараженности бактериями рода *Wolbachia* стеблевых мотыльков рода *Ostrinia*, собранных на разных кормовых растениях

#### A summary of *Wolbachia* prevalence rates in corn borer *Ostrinia* from different forage plants

Вид насекомых, кормовое растение	Количество насекомых		Зараженность, % $\pm$ ошибка % <sup>1</sup>
	всего	заражено	
<i>Ostrinia nubilalis</i>	141	19	13,5 $\pm$ 2,9 a
<i>Ostrinia scapularis</i> в том числе:	138	44	31,9 $\pm$ 4,0 b
на полыни	62	13	21,0 $\pm$ 5,2 ac
на конопле	76	31	40,8 $\pm$ 5,7 d

<sup>1</sup> Разными буквами отмечены значения, достоверно отличающиеся при  $p < 0,01$

(критерий хи-квадрат с поправкой Йейтса,  $p = 0,043$ ), что может быть обусловлено разнообразными факторами, связанными со свойствами кормовых растений, генетическим дрейфом и особенностями взаимоотношений участников симбиоза. Действительно, для абсолютного большинства симбиотических ассоциаций факты высоких (~100 %) значений инфекций, как, например, у сибирского шелкопряда *Dendrolimus superans* [25], или очень низких (3 % и менее), как у репницы *Pieris rapae* [10], еще не нашли объяснения. Однако результаты подробных исследований некоторых ассоциаций указывают на то, что поддержание определенного уровня инфекции в популяциях, как и следует ожидать, напрямую связано со степенью выраженности влияния бактерии на своего хозяина. Например, высокая частота *Wolbachia* у *Acraea encedana* (>90 %) и *Hypolimnas bolina* (до 100 %) объясняется высоким уровнем андроксида [26, 27]. Уровень инфицированности комаров *Culex pipiens*, достигающий 100 %, обусловлен сильной цитоплазматической несовместимостью [28–30]. У *Drosophila melanogaster* популяции инфицированы повсеместно со средним значением зараженности 50 % [31, 32]. С одной стороны, уровень цитоплазматической несовместимости у *D. melanogaster* сильно варьирует, но зачастую оказывается низким или вовсе отсутствует [31, 33, 34], а с другой стороны, *Wolbachia* способна в определенных случаях повышать приспособленность мух [5–8]. Низкий уровень инфекции у мух *D. incompta* объясняют отсутствием цитоплазматической несовместимости [35].

Таким образом, впервые показано присутствие бактерий рода *Wolbachia* у двух близкородственных видов рода *Ostrinia* в Восточной Европе. Широкая представленность *Wolbachia* у *Ostrinia* указывает на перспективность дальнейших исследований этих симбиотических ассоциаций. В данной работе мы не проводили определение генетического разнообразия *Wolbachia*. Однако для обсуждения роли *Wolbachia* в формировании изоляционных барьеров между популяциями *Ostrinia* исключительно важным аспектом является подробный популяционно-генетический анализ симбионта. Необходимо ответить на следующие вопросы: 1) каково разнообразие и частоты встречаемости штаммов симбионта у этих двух видов и внутри видов в разных популяциях; 2) есть ли вариация внутри популяций; 3) есть ли в популяциях особи, инфицированные двумя и более штаммами *Wolbachia*? Например, если *Wolbachia* у *Ostrinia* способна вызывать цитоплазматическую несовместимость, то разные штаммы симбионта у разных видов-хозяев или в разных популяциях одного вида могут формировать некоторый уровень постзиготической изоляции. Присутствие *Wolbachia* необходимо учитывать при создании лабораторных культур *Ostrinia* spp. на основе материала, собранного в природе, особенно с учетом возможного андроксидного или какого-либо мутуалистического эффекта бактерии.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность двум анонимным рецензентам за ценные советы. Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований (проекты № 14-04-31783, 15-04-01226, 16-54-00144 и 16-04-00980), а также БП № 0324-2016-0002.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

- Williams KP, Sobral BW, Dickerman AW. A robust species tree for the alphaproteobacteria. *J Bacteriol.* 2007;189(13):4578-4586. doi: 10.1128/JB.00269-07.
- Ilinsky Y. Coevolution of *Drosophila melanogaster* mtDNA and *Wolbachia* genotypes. *PLoS One.* 2013;8(1):e54373. doi: 10.1371/journal.pone.0054373.
- Salunkhe RC, Narkhede KP, Shouche YS. Distribution and evolutionary impact of *Wolbachia* on butterfly hosts. *Indian J Microbiol.* 2014;54(3):249-254. doi: 10.1007/s12088-014-0448-x.
- Darby AC, Armstrong SD, Bah GS, et al. Analysis of gene expression from the *Wolbachia* genome of a filarial nematode supports both metabolic and defensive roles within the symbiosis. *Genome Res.* 2012;22(12):2467-77. doi: 10.1101/gr.138420.112.
- Ikeya T, Broughton S, Alic N, et al. The endosymbiont *Wolbachia* increases insulin/IGF-like signalling in *Drosophila*. *Proc Biol Sci.* 2009;206:3799-3807. doi: 10.1098/rspb.2009.0778.
- Wong ZS, Brownlie JC, Johnson KN. Oxidative Stress Correlates with *Wolbachia*-Mediated Antiviral Protection in *Wolbachia*-*Drosophila* Associations. *Appl Environ Microbiol.* 2015;81(9):3001-3005. doi: 10.1128/AEM.03847-14.
- Fry AJ, Palmer MR, Rand DM. Variable fitness effects of *Wolbachia* infection in *Drosophila melanogaster*. *Heredity.* 2004;93:379-389. doi:10.1038/sj.hdy.6800514.
- Вайсман Н.Я., Илинский Ю.Ю., Голубовский М.Д. Популяционно-генетический анализ продолжительности жизни *Drosophila melanogaster*: сходные эффекты эндосимбионта *Wolbachia* и опухолевого супрессора *lgl* в условиях температурного стресса // Журнал общей биологии. — 2009. — Т. 70. — № 5. — С. 425–434. [Vaysman NYa, Ilinskiy YuYu, Golubovskiy MD. Population genetic analysis of *Drosophila melanogaster* longevity: similar effects of endosymbiont *Wolbachia* and tumor suppressor *lgl* under conditions of temperature stress. *Zhurnal obshchey biologii.* 2009;70(5):425-434. (In Russ.)]
- Salunke BK, Salunkhe RC, Dhotre DP, et al. Determination of *Wolbachia* diversity in butterflies from Western Ghats, India, by a multigene approach. *Appl En-*

- viron Microbiol.* 2012;78:4458-4467. doi: 10.1128/AEM.07298-11.
10. Tagami Y, Miura K. Distribution and prevalence of *Wolbachia* in Japanese populations of Lepidoptera. *Insect Mol Biol.* 2004;13(4):359-364. doi: 10.1111/j.0962-1075.2004.00492.x.
  11. Baldo L, Hotopp JCD, Jolley KA, et al. Multilocus sequence typing system for the endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl Environ Microbiol.* 2006;72 (11): 7098-7110. doi: 10.1128/AEM.00731-06.
  12. Russell JA, Goldman-Huertas B, Moreau CS, et al. Specialization and geographic isolation among *Wolbachia* symbionts from ants and lycaenid butterflies. *Evolution.* 2009;63(3):624-640. doi: 10.1111/j.1558-5646.2008.00579.x.
  13. Solovyev VI, Ilinsky Y, Kosterin OE. Genetic integrity of four species of *Leptidea* (Pieridae, Lepidoptera) as sampled in sympatry in West Siberia. *Comparative Cytogenetics.* 2015;9(3):299. doi: 10.3897/CompCytogen.v9i3.4636.
  14. Frolov AN, Audiot P, Bourguet D, et al. "From Russia with lobe": genetic differentiation in trilobed uncus *Ostrinia* spp. follows food plant, not hairy legs. *Heredity.* 2012;108(2):146-156. doi: 10.1038/hdy.2011.58.
  15. Pelissie B, Ponsard S, Tokarev YS, et al. Did the introduction of maize into Europe provide enemy-free space to *O. nubilalis*? – parasitism differences between two sibling species of the genus *Ostrinia*. *J Evol Biol.* 2010;23:350-61. doi: 10.1111/j.1420-9101.2009.01903.x.
  16. Werren JH. Biology of *Wolbachia*. *Ann Rev Entomol.* 1997;42:587-609. doi: 10.1146/annurev.ento.42.1.587.
  17. Kageyama D, Nishimura G, Hoshizaki S, Ishikawa Y. Feminizing *Wolbachia* in an insect, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Heredity.* 2002;88(6):444-449. doi: 10.1038/sj.hdy.6800077.
  18. Kageyama D, Traut W. Opposite sex-specific effects of *Wolbachia* and interference with the sex determination of its host *Ostrinia scapularis*. *Proc Biol Sci.* 2004;271(1536):251-258. doi: 10.1098/rspb.2003.2604.
  19. Kageyama D, Ohno S, Hoshizaki S, Ishikawa Y. Sexual mosaics induced by tetracycline treatment in the *Wolbachia*-infected adzuki bean borer, *Ostrinia scapularis*. *Genome.* 2003;46(6):983-989. doi: 10.1139/g03-082.
  20. Sakamoto H, Ishikawa Y, Sasaki T, et al. Transinfection reveals the crucial importance of *Wolbachia* genotypes in determining the type of reproductive alteration in the host. *Genet Res.* 2005;85(3):205-210. doi:10.1017/S0016672305007573.
  21. Sakamoto H, Kageyama D, Hoshizaki S, Ishikawa Y. Sex-specific death in the Asian corn borer moth (*Ostrinia furnacalis*) infected with *Wolbachia* occurs across larval development. *Genome.* 2007;50(7):645-52. doi: 10.1139/G07-041.
  22. Hebert PDN, Penton EH, Burns JM, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2004;101:14812-14817. doi: 10.1073/pnas.0406166101.
  23. Choudhury R, Werren JH. 2006. Unpublished primers.
  24. Werren JH, Windsor D. *Wolbachia* infection frequencies in insects: evidence of a global equilibrium? *Proc Biol Sci.* 2000;267:1277-1285. doi: 10.1098/rspb.2000.1139.
  25. Юдина М.А., Дубатовлов 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. – Т. 20. – № 6. – С. 899–903. [Yudina MA, Dubatolov VV, Bykov RA, Ilinsky YuYu. Symbiotic bacteria *Wolbachia* in populations of the coniferous forests pest *Dendrolimus superans sibiricus* Tschetverikov, 1908 (Lepidoptera: Lasiocampidae). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii (Vavilov Journal of Genetics and Breeding)*. 2016;20(6):899-903. (In Russ.).] doi: 10.18699/VJ16.208.
  26. Jiggins FM, Hurst GDD, Dolman CE, Majerus MEN. High prevalence male-killing *Wolbachia* in the butterfly *Acraea encedana*. *J Evol Biol.* 2000;13:495-501. doi: 10.1046/j.1420-9101.2000.00180.x.
  27. Dyson EA, Kamath MK, Hurst GDD. *Wolbachia* infection associated with all-female broods in *Hypolimnax bolina* (Lepidoptera: Nymphalidae): evidence for horizontal transmission of a butterfly male killer. *Heredity.* 2002;88(3):166-171. doi: 10.1038/sj.hdy.6800021.
  28. Rasgon JL, Scott TW. *Wolbachia* and cytoplasmic incompatibility in the California *Culex pipiens* mosquito species complex: parameter estimates and infection dynamics in natural populations. *Genetics.* 2003;165(4):2029-2038.
  29. Khrabrova NV, Bukhanskaya ED, Sibataev AK, Volkova TV. The distribution of strains of endosymbiotic bacteria *Wolbachia pipientis* in natural populations of *Culex pipiens* mosquitoes (Diptera: Culicidae). *European Mosquito Bulletin.* 2009;(27):18-22.
  30. Shaikevich EV, Vinogradova EB, Bouattour A, de Almeida APG. Genetic diversity of *Culex pipiens* mosquitoes in distinct populations from Europe: contribution of *Cx. quinquefasciatus* in Mediterranean populations. *Parasites & Vectors.* 2016;9(1):47. doi: 10.1186/s13071-016-1333-8.
  31. Hoffmann AA, Clancy DJ, Merton E. Cytoplasmic incompatibility in Australian populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 1994;136(3):993-999.
  32. Илинский Ю.Ю., Захаров И.К. Эндосимбионт *Wolbachia* в евразийских популяциях *Drosophila melanogaster* // Генетика. – 2007. – Т. 43. – № 7. – С. 905–915. [Ilinsky YY, Zakharov IK. The endosymbiont *Wolbachia* in Eurasian populations of *Drosophila melanogaster*. *Russ J Genet.* 2007;43:748. doi: 10.1134/S102279540707006X.

33. Yamada R, Floate KD, Riegler M, O'Neill SL. Male development time influences the strength of *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 2007;177(2):801-8. doi: 10.1534/genetics.106.068486.
34. Ilinsky YY, Zakharov IK. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila melanogaster* is caused by different *Wolbachia* genotypes. *Russian Journal of Genetics: Applied Research*. 2011;1(5):458.
35. Wallau GL, da Rosa MT, De Ré FC, Loreto ELS. *Wolbachia* from *Drosophila incompta*: just a hitchhiker shared by *Drosophila* in the New and Old World? *Insect Molecular Biology*. 2016;25(4):487-499. doi: 10.1111/imb.12237.

**PREVALENCE RATES OF WOLBACHIA ENDOSYMBIOTIC BACTERIUM IN NATURAL POPULATIONS OF OSTRINIA NUBILALIS AND OSTRINIA SCAPULALIS (LEPIDOPTERA: PYRALOIDEA: CRAMBIDAE) IN SOUTH-WESTERN RUSSIA**

Y.S. Tokarev, M.A. Yudina, J.M. Malysh, R.A. Bykov, A.N. Frolov, I.V. Grushevaya, Y.Y. Ilinsky

For citation: *Ecological genetics*. 2017;15(1):44-49

✿ **SUMMARY: Background.** Endosymbiotic bacteria of the genus *Wolbachia* are widespread in arthropods and often cause reproductive abnormalities in lepidopteran insects, including corn borers of the genus *Ostrinia*. *Wolbachia-Ostrinia* is a promising model for studies of parasite-host interactions yet parasite prevalence in natural insect host populations remains unknown. **Materials and Methods.** Molecular genetic screening and statistical analysis is applied to evaluate prevalence rates of *Wolbachia* in sympatric populations of two corn borer species. Individual genomic DNA samples were extracted from last instar larvae collected in nature from different forage plants. For each sample of DNA showing positive signal with insect-specific primers the detection is performed using three diagnostic loci of *Wolbachia*: *16SrRNA*, *gatB* and *fbpA*. **Results.** *Wolbachia*-positive signal is obtained for 13.5% larvae of *Ostrinia nubilalis* ( $N = 141$ ) and 31.9% larvae of *Ostrinia scapularis* ( $N = 138$ ). In different localities the *Wolbachia* prevalence ranged from 2.9% ( $N = 34$ ) to 65.8% ( $N = 38$ ). Significantly higher rates of *Wolbachia* prevalence in insects from mugwort and hemp (*O. scapularis*) as compared to those from corn (*O. nubilalis*) are revealed in three out of four localities. **Conclusions.** Endosymbiotic bacteria of the genus *Wolbachia* are revealed in natural populations of corn borers for the first time for Eastern Europe. The prevalence rates can be high and this should be taken into consideration when reproductive isolation is examined in population of these hosts as well as establishment of laboratory cultures is performed.

✿ **KEYWORDS:** *Wolbachia*; Lepidoptera; corn borers; forage plants; molecular genetic detection.

✿ Информация об авторах

**Юрий Сергеевич Токарев** — старший научный сотрудник, лаборатория микробиологической защиты растений. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: jumacro@yahoo.com.

**Мария Александровна Юдина** — инженер, отдел генетики насекомых. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН; ассистент, кафедра цитологии и генетики. Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск. E-mail: maryjudina@gmail.com.

**Юлия Михайловна Малыш** — научный сотрудник, лаборатория сельскохозяйственной энтомологии. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: malyshjm@mail.ru.

**Роман Андреевич Быков** — канд. биол. наук, научный сотрудник, отдел генетики насекомых. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск. E-mail: bykovra@bionet.nsc.ru.

**Андрей Николаевич Фролов** — заведующий лабораторией, лаборатория сельскохозяйственной энтомологии. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: cornborer@gmail.com.

**Инна Валентиновна Грушевая** — младший научный сотрудник, лаборатория сельскохозяйственной энтомологии. Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: grushevaya\_12@mail.ru.

**Юрий Юрьевич Илинский** — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, отдел генетики насекомых. Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН; старший преподаватель, кафедра цитологии и генетики. Новосибирский национальный исследовательский государственный университет, Новосибирск. E-mail: paulee@bionet.nsc.ru.

✿ Information about the authors

**Yuri S. Tokarev** — Senior researcher, Laboratory of microbiological control. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: jumacro@yahoo.com.

**Mariya A. Yudina** — Engineer, Department of Insect Genetics. Institute of Cytology and Genetics SB RAS; Assistant, Department of Cytology and Genetics. Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia. E-mail: maryjudina@gmail.com.

**Julia M. Malysh** — Researcher, Laboratory of agricultural entomology. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: malyshjm@mail.ru.

**Roman A. Bykov** — Researcher, Department of insect genetics. Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia. E-mail: bykovra@bionet.nsc.ru.

**Andrei N. Frolov** — Head of laboratory, Laboratory of agricultural entomology. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: cornborer@gmail.com.

**Inna V. Grushevaya** — Junior researcher, Laboratory of agricultural entomology. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. E-mail: grushevaya\_12@mail.ru.

**Yury Y. Ilinsky** — Senior Researcher, Department of Insect Genetics. Institute of Cytology and Genetics SB RAS; Senior Lecturer, Department of Cytology and Genetics. Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia. E-mail: paulee@bionet.nsc.ru.