

КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА

УДК 632.754.1:575.174

doi: 10.17223/19988591/55/3

Е.Н. Беседина¹, В.И. Киль²

¹Федеральный научный центр биологической защиты растений, г. Краснодар, Россия

²Кубанский государственный университет, г. Краснодар, Россия

ДНК-полиморфизм и генетическое разнообразие популяции дубовой кружевницы (*Corythucha arcuata* Say) в Краснодарском крае

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований и администрации Краснодарского края (научный проект № 19-44-233009 р_мол_а) и в рамках Государственного задания Министерства науки и высшего образования РФ (тема № 0686-2019-0012).

Проведен RAPD-ПЦР-анализ географических выборок насекомых Краснодарского края из ареалов дубовой кружевницы (*Corythucha arcuata* Say) в лесопарковых зонах Краснодара, Тихорецка, Крымска, Сочи. Отмечены высокие уровни ДНК-полиморфизма ($P = 100\%$) и генетического разнообразия ($H = 0,26–0,29$, по Nei) в популяции *C. arcuata*. Показано, что большую часть генетической изменчивости составила изменчивость внутри популяционных группировок (93,2%), тогда как на долю изменчивости между ними приходилось 6,8% от общей изменчивости. Выявлены значительный уровень потока генов между внутривнутрипопуляционными группировками насекомых ($N_m = 6,98$) и высокая степень генетического сходства между ними внутри популяции ($GI = 0,942–0,998$). Вероятно, проанализированные выборки насекомых представляют собой внутривнутрипопуляционные группировки из одной популяции дубовой кружевницы.

Ключевые слова: *Corythucha arcuata*; насекомые; ПЦР; RAPD-анализ; генетическая изменчивость; внутривнутрипопуляционные группировки

Сокращения: GI – генетическая идентичность [Genetic Identity]; GD – генетические расстояния [Genetic Distances].

Для цитирования: Беседина Е.Н., Киль В.И. ДНК-полиморфизм и генетическое разнообразие популяции дубовой кружевницы (*Corythucha arcuata* Say) в Краснодарском крае // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 55. С. 42–XX. doi: 10.17223/19988591/55/3

Введение

Клоп дубовая кружевница *Corythucha arcuata* Say (Heteroptera: Tingidae) – опасный инвазивный вид, родина которого Северная Америка [1]. Отсутствие эффективных средств и методов борьбы с ним привело к

тому, что адвентивный вредитель поставил под угрозу существование древесных экосистем стран Западной, Восточной, Южной Европы и Передней Азии [2–4]. После первого его обнаружения в 2015 г. на территории России в Краснодарском крае клоп значительно расширил свой формирующийся инвазионный ареал, и в течение двух лет его вредоносность приобрела характер пандемии [5–7]. К настоящему времени вредитель стремительно распространился на Северном Кавказе, рассматриваемом в административных границах Краснодарского края, Республики Адыгея, а также прилегающих территорий Ставропольского края, Ростовской области, Республик Карачаево-Черкесия и Абхазия [8–10].

Площадь очагов его массового размножения только в государственных лесах на территории края уже в 2016 г. превысила 372 тыс. га, а площадь инвазии, определяемая по крайним находкам *C. arcuata*, достигла 1 300 тыс. га (при этом общая площадь лесов Краснодарского края составляет 1 683,1 тыс. га), в 2017 г. – 620 тыс. га, в 2018 г. – 742 тыс. га [10–11]. С 1 июля 2017 г. клоп дубовая кружевница внесен в перечень карантинных объектов на территории Российской Федерации [12].

Дубовая кружевница повреждает целый ряд ценнейших древесных и кустарниковых пород [10–11, 13–15]. Огромная вредоносность клопа, определяемая полным поражением всей листовой поверхности, приводит к нарушению фотосинтеза, что прекращает поглощение углекислого газа и выделение кислорода, нормальный рост и развитие растений и влечет нарушение равновесия экосистем [16]. За вегетационный период развиваются 3–4 генерации вредителя [10, 17]. Масштабной инвазии *C. arcuata* на Северном Кавказе способствуют пластичность сезонного цикла, миграционная активность и полифагия имаго, а также развитая транспортная инфраструктура, поддерживающая значительный грузопоток из потенциальных источников завоза чужеродных вредных организмов к естественным лесам [10].

Для успешного осуществления программ по защите растений от вредителей необходимо изучение биологии и генетики популяций вредных насекомых. Знание популяционной генетики поможет усовершенствовать диагностику, определить пути вторжения, миграции вида и разработать механизмы их предотвращения.

В литературе имеются данные о секвенировании полного митохондриального генома платановой кружевницы *Corythucha ciliata* (Say, 1832) [18], а также митохондриального генома и сегмента ядерного рибосомного гена другого представителя этого семейства *Pseudacysta perseae* (Heidemann, 1908) [19]. Филогенетические исследования семейства Tingidae, включая виды *C. ciliata* и *Stephanitis pyri* (F., 1775), проведены авторами на основе сравнительного анализа последовательности нуклеотидов участков ядерных и митохондриальных генов (*COI*, *Leu-tRNA*, *COII*, *16S* и *28S rRNA*) [20]. В другом исследовании с использованием FISH-картирования с маркером 18S рДНК изучены *Stephanitis caucasica* (Kiritshenko, 1939), *S. pyri*,

Physatocheila confinis (Horváth, 1905), *Lasiacantha capucina* (Germar, 1836), *Dictyla rotundata* (Herrich-Schäffer, 1835) и *Dictyla echii* (Schrank, 1782) [21].

Для определения путей миграции и инвазии *C. ciliata* проведено изучение генетической структуры азиатских и европейских популяций платановой кружевницы с помощью анализа митохондриальных последовательностей ДНК и микросателлитов [22]. Проведенный анализ подтвердил широко распространенную вторичную инвазию, происходящую от первичной инвазивной популяции, что наблюдалось при расселении других инвазивных насекомых, включая *Frankliniella occidentalis* (Perg., 1895) [23], *Solenopsis invicta* (Buren, 1972) [24] и *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte, 1858) [25].

Современные геномные подходы могут предоставить возможность для разработки новых стратегий управления численностью насекомых, которые представляют непосредственную угрозу для окружающей среды. Так, у платановой кружевницы изучены уровни экспрессии генов, контролирующие особенности метаморфоза и механизмы половой детерминации. Эти гены, отвечающие за синтез ювенильных гормонов, хемосенсорного и кутикулярного белков, могут служить молекулярными мишенями для новых инсектицидов [26].

Анализ изменчивости генетической структуры популяций, как одного из направлений популяционной генетики насекомых, включает оценку генетического разнообразия, ДНК-полиморфизма и генетического сходства изучаемых объектов. Один из подходов к изучению генетики популяций – использование молекулярных маркеров, представляющих полиморфные последовательности ДНК, которые могут быть обнаружены с помощью различных модификаций метода ПЦР, включая RAPD-PCR (randomly amplified DNA polymerase chain reaction) – случайным образом амплифицированная ДНК [27]. Данный подход относительно прост в сравнении с другими вариантами ПЦР, так как не требует знания первичной последовательности ДНК [28]. Проблемы с относительно низкой воспроизводимостью этого метода могут быть устранены подбором высокоспецифичных к ДНК RAPD-праймеров [29–30]. Подобный подход с успехом применяется при сравнительном анализе ДНК-полиморфизма не только различных видов клопов, но и других отрядов насекомых, что позволяет изучать генетику популяций вредных насекомых наряду с использованием других маркерных систем ПЦР [31–32].

Цель работы – изучение молекулярно-генетической структуры локальных популяций дубовой кружевницы *C. arcuata* в Краснодарском крае по RAPD-маркерам для оценки их генетического сходства.

Материалы и методики исследования

Исследования проведены в 2020 г. на территориях инвазивного распространения клопа дубовая кружевница в Краснодарском крае: города Краснодар, Тихорецк, Крымск и Сочи. Объект исследований – выборки насекомых

($n=20$) из природной популяции дубовой кружевницы выбранных локалитетов. Общее количество исследованных образцов – 240. Сбор клопов *C. arcuata* осуществлен на модельных деревьях дуба черешчатого (*Quercus robur* L.). Выборка деревьев – 10 дубов из каждого локалитета.

Лабораторные исследования выполнены на базе сектора биотехнологии ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (г. Краснодар). Выделение ДНК из целых особей насекомых (имаго), амплификация (RAPD-PCR) и электрофорез проведены по разработанной нами ранее методике [33]. RAPD-амплификация проведена в 25 мкл реакционной смеси, содержащей 10 мМ Tris-HCl, pH 9,0; 50 мМ KCl; 3,0 мМ MgCl₂; 50 мкМ каждого dNTP; 0,8 мкМ праймера; 0,5 ед. Taq-полимеразы и 20 нг ДНК. Все компоненты взяты из набора для амплификации («Силекс», Россия).

В RAPD-PCR использованы высокоспецифичные для ДНК клопа дубовой кружевницы праймеры: ОРА07, ОРА09, ОРА18 («Евроген», Россия) [34–36].

Амплификация проведена на приборе «iCycler» («Bio Rad», США), в следующих режимах:

- 1) 3 минуты предварительная денатурация при 94 °C;
- 2) 36 циклов:
 - 20 секунд денатурация при 94 °C;
 - 20 секунд отжиг при 36 °C;
 - 60 секунд элонгация при 72 °C;
- 3) 10 минут конечный синтез при 72 °C.

Амплифицированные фрагменты ДНК разделены электрофорезом в 1,8%-ном агарозном геле в буфере TBE (45 мМ Трис-бората и 1 мМ ЭДТА) с дальнейшим окрашиванием бромистым этидием (0,5 мкг/мл). Продукты амплификации визуализированы с помощью системы гель-документирования GelDoc XR+ («Bio Rad», США). В качестве маркера молекулярного веса ДНК использован Gene Ruler 100 bp DNA Ladder («Thermo Fisher Scientific», США).

Оценка ДНК-полиморфизма, генетического разнообразия и генетического сходства проведена по информационным индексам Nei и Shannon с помощью компьютерной программы POPGENE (version 1.31) [37]. Статистическая значимость различий между средними значениями по выборке оценена по t-критерию Стьюдента ($p < 0,05$).

Результаты исследования и обсуждение

Одно из направлений популяционной генетики насекомых – изучение изменчивости генетической структуры популяций, что включает в себя оценку генетического разнообразия, ДНК-полиморфизма и генетического сходства изучаемых объектов. Это позволяет судить о потоке генов, т.е. обмене генетическим материалом внутри популяции или между популяциями, и опре-

делить степень их генетической дифференциации: представляют они собой разные популяции или одну единую популяцию и являются в этом случае внутривидовыми группировками.

С использованием RAPD-PCR-системы маркирования изучена молекулярно-генетическая структура локальных популяций дубовой кружевницы в Краснодарском крае. Проведен RAPD-анализ географических выборок насекомых из городов Краснодар, Тихорецк, Крымск и Сочи. В общей сложности с использованием трех праймеров получено 39 RAPD-локусов (рис. 1, табл. 1).

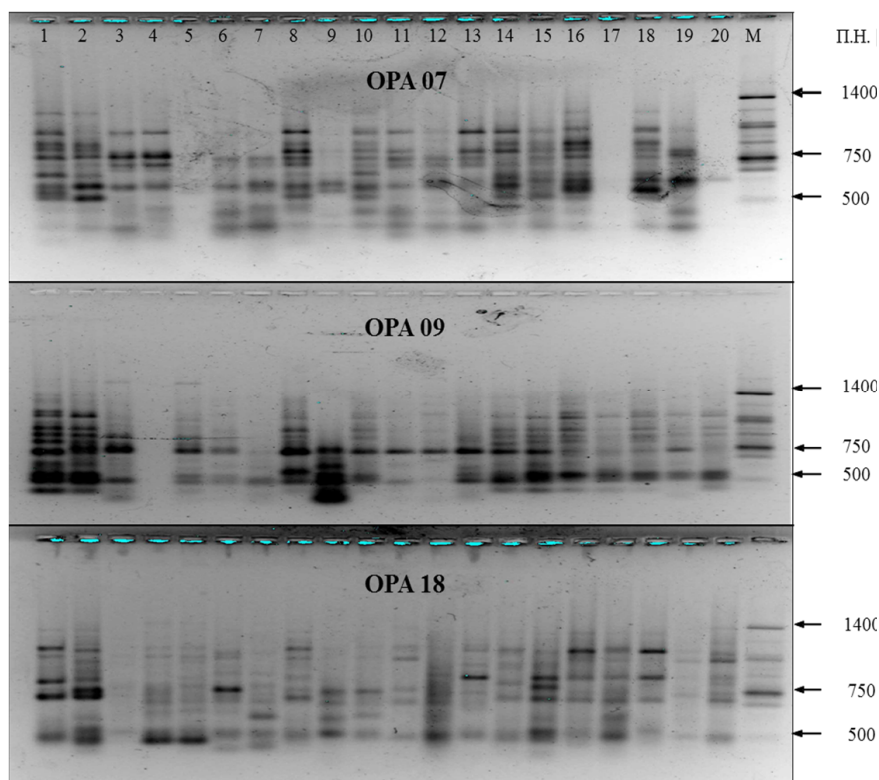


Рис. 1. Электрофореграммы продуктов RAPD-PCR *Corythucha arcuata* в 1,8% агарозном геле с праймерами OPA07, OPA09 и OPA18. Дорожки – ампликоны ДНК насекомых различных географических выборок: 1–5 – г. Тихорецк; 6–10 – г. Краснодар; 11–15 – г. Крымск; 16–20 – г. Сочи. М – маркеры молекулярных масс, п.н.

[Fig. 1. Electropherograms of RAPD-PCR products of *Corythucha arcuata* in 1.8% agarose gel with primers OPA07, OPA09 and OPA18.

Lanes - DNA amplicons of insects from various geographic samples: 1-5 - Tikhoretsk; 6-10 - Krasnodar; 11-15 - Krymsk; 16-20 - Sochi. M - Molecular weight markers, bp]

Таблица 1 [Table 1]

**Число локусов на праймер и размеры ДНК-фрагментов
в RAPD-анализе *Corythucha arcuata***

[Number of loci per primer and sizes of DNA fragments in RAPD analysis of *Corythucha arcuata*]

RAPD-праймер [RAPD-primer]	Последовательность нуклеотидов 5'-3' [Sequence of nucleotides 5'-3']	Число локусов [Number of loci]	Размеры ДНК-фрагментов, п.н. [Sizes of DNA fragments, bp]
OPA 07	GAAACGGGTG	14	≈1500–200
OPA 09	GGGTAACGCC	12	≈1500–200
OPA 18	AGGTGACCGT	13	≈1400–300

Молекулярно-генетический анализ *C. arcuata* выявил в целом высокие уровни ДНК-полиморфизма ($P = 100\%$) и генетического разнообразия ($H = 0,26–0,29$, по Nei) в популяции дубовой кружевницы и отсутствие различий между выборками по этим показателям (табл. 2–3).

Таблица 2 [Table 2]

**Генетическое разнообразие и ДНК-полиморфизм внутривнутрипопуляционных
группировок *Corythucha arcuata* по RAPD-локусам (n=39)
[Genetic diversity and DNA polymorphism of *Corythucha arcuata*
intra-population groupings at RAPD loci (n=39)]**

Внутрипопуляционная группировка [Intra-population grouping]	P (%)	Na±SD*	Ne±SD*	H±SD*	I±SD*
Краснодарская [Krasnodar]	97,4	1,97±0,16	1,47±0,31	0,29±0,15	0,45±0,19
Тихорецкая [Tikhoretsk]	92,3	1,92±0,27	1,44±0,31	0,27±0,16	0,42±0,21
Крымская [Krymsk]	89,7	1,90±0,31	1,42±0,31	0,26±0,16	0,41±0,22
Сочинская [Sochi]	87,2	1,87±0,34	1,47±0,36	0,28±0,18	0,42±0,24

Примечание. * $t_{факт} \leq t_{05}$ – статистически не значимые различия; P – % полиморфных локусов в популяционной группировке; Na – число аллелей на локус; Ne – эффективное число аллелей на локус; H – генетическое разнообразие по Nei; I – генетическое разнообразие по Shannon; ±SD – стандартное отклонение.

[Note. * $t_{факт} \leq t_{05}$ - Differences are not significant; P - Percentage of polymorphic loci in a population grouping; Na - The number of alleles per locus; Ne - Effective number of alleles per locus; H - Genetic diversity by Nei; I - Genetic diversity by Shannon; ±SD - Standard deviation].

В свою очередь, анализ генетических различий между исследуемыми выборками насекомых выявил также высокую степень сходства между ними (генетическая идентичность (GI) = 0,942–0,998; генетическое расстояние (GD) = 0,003–0,060) (табл. 4).

Таблица 3 [Table 3]

**Суммарная генетическая изменчивость популяции
Corythucha arcuata в Краснодарском крае**
[Total genetic variability of the *Corythucha arcuata* population in Krasnodar Krai]

Показатель [Indicator]	P (%)	Na	Ne	Ht	Hs	Gst	Nm
Значение [Value] ($\pm$ SD)	100,0	2,0 $\pm$ 0,0	1,47 $\pm$ 0,30	0,295 $\pm$ 0,020	0,275 $\pm$ 0,017	0,07	6,98

Примечание. P – % полиморфных локусов по всем выборкам; Na – число аллелей на локус; Ne – эффективное число аллелей на локус; Ht – общее генетическое разнообразие в популяции по Nei; Hs – среднее генетическое разнообразие внутри популяционных группировок по Nei; Gst – коэффициент генетической дифференциации по Nei; Nm – показатель потока генов между популяционными группировками.

[Note. P - Percentage of polymorphic loci in all samples; Na - The number of alleles per locus; Ne - Effective number of alleles per locus; Ht - Total genetic diversity in a population by Nei; Hs - Average genetic diversity within population groupings by Nei; Gst - Genetic differentiation coefficient by Nei; Nm - Indicator of gene flow between population groupings].

Таблица 4 [Table 4]

Генетическая идентичность (GI) (над диагональю) и генетические расстояния (GD) (под диагональю) между внутривнутрипопуляционными группировками дубовой кружевницы в Краснодарском крае
[Genetic identity (GI) (above the diagonal) and genetic distances (GD) (below the diagonal) between oak lace bug intra-population groupings in Krasnodar Krai]

Внутрипопуляционная группировка [Intra-population grouping]	Краснодарская [Krasnodar]	Тихорецкая [Tikhoretsk]	Крымская [Krymsk]	Сочинская [Sochi]
Краснодарская [Krasnodar]		0,973	0,962	0,942
Тихорецкая [Tikhoretsk]	0,027		0,998	0,981
Крымская [Krymsk]	0,039	0,003		0,984
Сочинская [Sochi]	0,060	0,019	0,016	

Наиболее близкими в генетическом отношении оказались тихорецкая и крымская внутривнутрипопуляционные группировки (генетическая идентичность (GI) = 0,998; генетическое расстояние (GD) = 0,003). Это также демонстрировал и кластерный анализ данных, где эти две выборки отстояли отдельно от других и образовали один кластер (рис. 2). При этом выборки из Краснодара и Сочи в большей степени отличались от других (GI = 0,942; GD = 0,06). Возможно, это связано с большим географическим расстоянием между ними.

Эти данные позволяют предположить, что исследуемые географические выборки насекомых *C. arcuata* представляют собой внутривнутрипопуляционные группировки одной популяции.

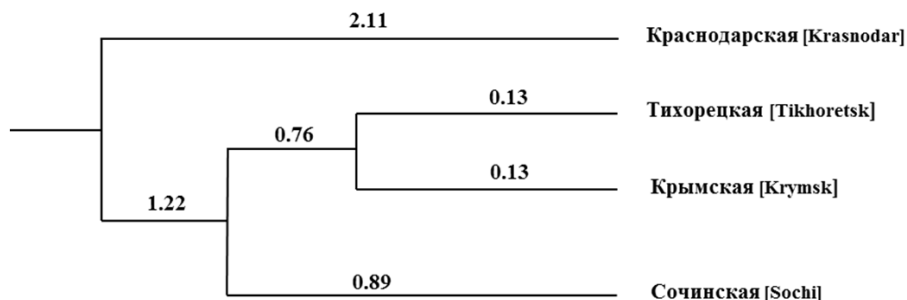


Рис. 2. Дендрограмма генетических расстояний между кластерами внутрипопуляционных группировок *Corythucha arcuata* в Краснодарском крае
[Fig. 2. Dendrogram of genetic distances between clusters of *Corythucha arcuata* intra-population groupings in Krasnodar Krai]

Данный вывод подтверждается также тем, что генетическое разнообразие (по Nei) внутри четырех географических выборок ($H_s = 0,275$) составило 93,2% от общего генетического разнообразия в популяции клопов ($H_t = 0,295$). Это указывает на значительный уровень потока генов между ними, что подтверждают и расчетные данные: уровень генетического потока составил $N_m = 6,98$ (см. табл. 3). Такой уровень потока генов является значительным препятствием для дифференциации внутрипопуляционных группировок и является определяющим фактором, влияющим на генетическую структуру популяции. Относительно низкое значение коэффициента генетической дифференциации ($G_{st} = 0,07$) подтверждает тот факт, что только 6,8% от суммарной генетической изменчивости популяции падает на долю изменчивости между внутрипопуляционными группировками, определяющей дифференциацию между ними [22, 38].

Сходные данные получены нами ранее при анализе другого инвазивного вида клопов из семейства Tingidae – платановой кружевницы *C. ciliata* [39]. Выявлены значительный поток генов между локальными популяциями этого вида в Краснодарском крае ($N_m = 4,56$) и высокая степень генетического сходства между ними ($G_I = 0,909 - 0,948$).

Таким образом, проведенный молекулярно-генетический анализ географических выборок *C. arcuata* в Краснодарском крае выявил генетическое сходство исследуемых выборок насекомых. Полученные данные свидетельствуют о том, что выборки из локальных популяций дубовой кружевницы Краснодарского края представляют внутрипопуляционные группировки одной популяции *C. arcuata*. В свою очередь, недавняя инвазия дубовой кружевницы требует дальнейшего контроля распространения этого вида на юге России.

Заключение

RAPD-анализ локальных популяций *Corythucha arcuata* в Краснодарском крае выявил высокие уровни ДНК-полиморфизма ($P = 100\%$), генетического

сходства между ними ($GI = 0,942-0,998$) и внутривидового генетического разнообразия ($H = 0,26-0,29$). Показано, что определяющим фактором, влияющим на генетическую структуру популяции, является значительный уровень потока генов между внутривидовыми группировками ($N_m = 6,98$), препятствующий их дифференциации. Большую часть генетической изменчивости составила изменчивость внутри популяционных группировок (93,2%), тогда как на долю изменчивости между ними приходилось 6,8% от общей изменчивости. Установлено, что проанализированные выборки насекомых (краснодарская, тихорецкая, крымская, сочинская) представляют собой внутривидовые группировки из одной популяции кружевницы дубовой.

Литература

1. Froeschner R.C., Miller L.T. *Corythucha melissa*, a new species of lace bug (Heteroptera: Tingidae) from manzanita in California // Entomological News. 2002. Vol. 113, № 2. PP. 94–96.
2. Bernardinelli I., Zandigiacomo P. First record of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) in Europe // Informatore Fitopatologico. 2000. № 12. PP. 47–49.
3. EPPO, 2019. *Corythucha arcuata* (Crthar). URL: <https://gd.eppo.int/taxon/CRTHAR/distribution> (accessed: 01.06.2021).
4. Единый перечень карантинных объектов Евразийского экономического союза / Утвержден Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 30 ноября 2016 г. № 158. URL: <https://legalacts.ru/doc/reshenie-soveta-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-30112016-n-158/> (дата обращения: 1.06.2021).
5. Гниненко Ю.И., Хегай И.В., Васильева У.А. Клоп дубовая кружевница – новый опасный инвадер в лесах России // Карантин растений. Наука и практика. 2017. № 4 (22). С. 9–12.
6. Gninenko Yu.I. Identification of invasive bugs in Russian forests. Pushkino : VNIILM, 2018. 32 p.
7. Гниненко Ю.И., Чернова У.А., Раков А.Г., Гимранов Р.И., Хегай И.В. Методические рекомендации по защите от дубового клопа-кружевницы (для производственной проверки). Пушкино : ВНИИЛМ, 2019. 28 с.
8. Neimorovets V.V., Shchurov V.I., Bondarenko A.S., Skvortsov M.M., Konstantinov F.V. First documented outbreak and new data on the distribution of *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) in Russia // Acta Zoologica Bulgarica. 2017. Suppl. 9. PP. 139–142.
9. Карпун Н.Н., Проценко В.Е., Борисов Б.А., Ширяева Н.В. Обнаружение дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) в субтропической зоне Черноморского побережья Кавказа и прогноз изменения фитосанитарной ситуации в регионе // Евразийский энтомологический журнал. 2018. Т. 17, № 2. С. 113–119. doi: [10.15298/euroasentj.17.2.07](https://doi.org/10.15298/euroasentj.17.2.07)
10. Щуров В.И., Замотайлов А.С., Бондаренко А.С., Щурова А.В., Скворцов М.М., Глушенко Л.С. Кружевница дубовая *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) на Северо-Западном Кавказе: фенология, биология, мониторинг территориальной экспансии и вредоносности // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2019. Вып. 228. С. 58–87. doi: [10.21266/2079-4304.2019.228.58-87](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2019.228.58-87)
11. Щуров В.И., Бондаренко А.С., Скворцов М.М., Щурова А.В. Чужеродные насекомые – вредители леса, выявленные на северо-западном Кавказе в 2010–2016 гг., и последствия их неконтролируемого расселения // Известия Санкт-Петербургской

- лесотехнической академии. 2017. Вып. 220. С. 212–228. doi: [10.21266/2079-4304.2017.220.212-228](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2017.220.212-228)
12. Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, Южное межрегиональное управление Россельхознадзора. Перечень карантинных объектов. URL: <http://rsn.krasnodar.ru/otkrytye-dannye/7149/perechen-karantinnnyh-obektov/> (дата обращения: 01.06.2021).
 13. Стрюкова Н.М., Омеляненко Т.З., Голуб В.Б. Дубовая кружевница в Республике Крым // Защита и карантин растений. 2019. № 9. С. 43–44.
 14. Щуров В.И., Замотайлов А.С., Щурова А.В. Особенности сезонного цикла и экологии кружевницы дубовой *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) в природных зонах и высотных поясах Западного Кавказа (Heteroptera: Tingidae) // Материалы международной научной конференции «Биосфера и человек». 24–25 октября 2019 г., г. Майкоп, Республика Адыгея. Майкоп : Электронные издательские технологии, 2019. С. 118–120.
 15. Борисов Б.А., Карпун Н.Н., Бибин А.Р., Грабенко Е.А., Ширяева Н.В., Лянгузов М.Е. Новые данные о трофических связях инвазионного клопа дубовой кружевницы *Corythucha arcuata* (Heteroptera: Tingidae) в Краснодарском крае и Республике Адыгея по результатам исследований в 2018 году // Субтропическое и декоративное садоводство. 2018. № 67. С. 188–203. doi: [10.31360/2225-3068-2018-67-188-203](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2018-67-188-203)
 16. Иерусалимов Е.Н. Зоогенная дефолиация и лесное сообщество. М. : Товарищество научных изданий КМК, 2004. 263 с.
 17. Беседина Е.Н., Исмаилов В.Я. Мониторинг развития клопа дубовая кружевница (*Corythucha arcuata* Say) на основе использования теплосодержания атмосферы // Вестник Томского государственного университета. Биология. 2021. № 54. С. 138–157. doi: [10.17223/19988591/54/7](https://doi.org/10.17223/19988591/54/7)
 18. Yang W.Y., Du Y.Z., Yu W.W. The complete mitochondrial genome of the sycamore lace bug *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae) // Gene. 2013. Vol. 27, № 401. PP. 27–40. doi: [10.1016/j.gene.2013.08.087](https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.087)
 19. Kocher A., Guilbert É., Lhuillier É., Murienne J. Sequencing of the mitochondrial genome of the avocado lace bug *Pseudacysta perseae* (Heteroptera, Tingidae) using a genome skimming approach // Comptes Rendus Biologies. 2015. Vol. 338, № 3. PP. 149–160. doi: [10.1016/j.crv.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.12.004)
 20. Guilbert E., Damgaard J., D’Haese, C.A. Phylogeny of the lacebugs (Insecta: Heteroptera: Tingidae) using morphological and molecular data // Systematic Entomology. 2014. № 39 (3). PP. 431–441. doi: [10.1111/syen.12045](https://doi.org/10.1111/syen.12045)
 21. Golub N.V., Golub V.B., Kuznetsova V.G.. Further evidence for the variability of the 18S rDNA loci in the family Tingidae (Hemiptera, Heteroptera) // Comparative cytogenetics. 2016. Vol. 10, № 4. PP. 517–528. doi: [10.3897/CompCytogen.v10i4.9631](https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v10i4.9631)
 22. Yang W.Y., Tang X.T., Ju R.T., Zhang Y., Du Y.Z. The population genetic structure of *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) provides insights into its distribution and invasiveness // Scientific Reports. 2017. Vol. 7 (1). PP. 635. doi: [10.1038/s41598-017-00279-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00279-5)
 23. Yang X.M., Sun J.T., Xue X.F., Li J.B., Hong X.Y. Invasion genetics of the western flower thrips in China: evidence for genetic bottleneck, hybridization and bridgehead effect // PLoS One. 2012. № 7 (4). PP. 34567. doi: [10.1371/journal.pone.0034567](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034567)
 24. Asuncion M.S., Yang C.C., Oakey J., Calcaterra L. Global invasion history of the fire ant *Solenopsis invicta* // Science. 2011. Vol. 331, № 6020. PP. 1066–1068. doi: [10.1126/science.1198734](https://doi.org/10.1126/science.1198734)
 25. Ciosi M., Miller N.J., Kim K.S., Giordano R., Estoup A., Guillemaud T. Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity // Molecular Ecology. 2008. № 17 (16). PP. 3614–3627. doi: [10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x)

26. Li F., Wang R., Qu C., Fu N., Luo C., Xu Y. Sequencing and characterization of the invasive sycamore lace bug *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae) transcriptome // Plos One. 2016. Vol. 11, № 8. PP. 1–19. doi: [10.1371/journal.pone.0160609](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160609)
27. Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., Tingey S.V. DNA polymorphism's amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers // Nucleic Acids Research. 1990. Vol. 18. PP. 6531–6535.
28. Welsh J., McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers // Nucleic Acids Research. 1990. Vol. 18. PP. 7213–7218.
29. Stevens J., Wall R. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for studies of genetic variation in populations of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) in southern England // Bulletin of Entomological Research. 1995. Vol. 85. PP. 549–555. doi: [10.1017/S000748530003305](https://doi.org/10.1017/S000748530003305)
30. Киль В.И. Использование высокоспецифических RAPD-праймеров для ПЦР-анализа популяций вредных и полезных насекомых // Доклады РАХН. 2014. № 6. С. 21–25.
31. Kavar T., Pavlovčič P., Sušnik S., Meglič V., Virant-Doberlet M. Genetic differentiation of geographically separated populations of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae) // Bulletin of Entomological Research. 2006. Vol. 96, № 2. PP. 117–128.
32. Kil V.I. Using RAPD PCR method for studying DNA polymorphism of agricultural importance arthropods // Agricultural Research & Technology: Open Access Journal. 2017. Vol. 9 (4). e555769. doi: [10.19080/ARTOAJ.2017.09.555769](https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2017.09.555769)
33. Киль В.И. Методика оценки ДНК полиморфизма популяций насекомых с помощью ПЦР (RAPD- и ISSR-PCR). Методические рекомендации. Краснодар : Просвещение-Юг, 2009. 16 с.
34. Беседина Е.Н., Киль В.И. Молекулярно-генетический анализ различных видов клопов-кружовниц (Heteroptera: Tingidae) по RAPD-маркерам // Садоводство и виноградарство. 2019. № 6. С. 21–25. doi: [10.31676/0235-2591-2019-6-21-25](https://doi.org/10.31676/0235-2591-2019-6-21-25)
35. Беседина Е.Н., Киль В.И. Высокоспецифические RAPD-праймеры для ПЦР-анализа клопов-кружовниц (Heteroptera: Tingidae) // Материалы международной научной конференции «Биосфера и человек», 24–25 октября 2019 г., г. Майкоп, Республика Адыгея. Майкоп : Электронные издательские технологии, 2019. С. 17–18.
36. Беседина Е.Н., Киль В.И., Карпунин М.Н. Универсальные RAPD- и ISSR-праймеры для ПЦР-анализа клопов-кружовниц (Heteroptera: Tingidae) : Юбилейный сборник научных трудов XIII Международной научно-практической конференции, посвященной 90-летию Донского государственного технического университета (Ростовского-на-Дону института сельхозмашиностроения), в рамках XXIII Агропромышленного форума юга России и выставки «Интерагромаш», «Состояние и перспективы развития агропромышленного комплекса», 26–28 февраля 2020 г., г. Ростов-на Дону. Ростов н/Д : ДГТУ-ПРИНТ, 2020. Т. 1. С. 393–396. doi: [10.23947/interagro.2020.1.393-396](https://doi.org/10.23947/interagro.2020.1.393-396)
37. Yeh F.C., Yang R.C., Boyle T.B.J., Ye Z.H., Mao J.X. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis, version 1.31. Computer program and documentation. Edmonton : University of Alberta and Centre for International Forestry Research, 1999. 29 p.
38. Slatkin M. Gene flow in natural populations // Annual Review of Ecology and Systematics. 1985. Vol. 39. PP. 53–65.
39. Besedina E., Kil V., Ismailov V., Karpunina M. Molecular genetic analysis and phenology of the plane lace bug *Corythucha ciliata* Say (Hemiptera: Tingidae) in different parts of Krasnodar Krai // BIO Web of Conferences 21, 00011 (2020) XI International Scientific and Practical Conference «Biological Plant Protection is the Basis of Agroecosystems Stabilization». doi: [10.1051/bioconf/20202100011](https://doi.org/10.1051/bioconf/20202100011)

Поступила в редакцию 02.03.2021 г.; повторно 30.06.2021 г.;
принята 27.07.2021 г.; опубликована 29.09.2021 г.

Авторский коллектив:

Беседина Екатерина Николаевна, канд. биол. наук, с.н.с. сектора биотехнологии, ФГБНУ «Федеральный научный центр биологической защиты растений» (Россия, 350039, г. Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9976-5614>

E-mail: katrina7283@yandex.ru

Киль Владимир Ильич, д-р биол. наук, профессор кафедры геоэкологии и природопользования, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет» (Россия, 350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149).

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3762-9019>

E-mail: vlkil@inbox.ru

For citation: Besedina EN, Kil VI. DNA polymorphism and genetic diversity of the oak lace bug (*Corythucha arcuata* Say) population in Krasnodar Krai. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;55:42-57. doi: 10.17223/19988591/55/3 In Russian, English Summary

Ekaterina N. Besedina¹, Vladimir I. Kil²

¹Federal Scientific Center of Biological Plant Protection, Krasnodar, Russian Federation

²Kuban State University, Krasnodar, Russian Federation

**DNA polymorphism and genetic diversity of the oak lace bug
(*Corythucha arcuata* Say) population in Krasnodar Krai**

One of the directions of insect population genetics is the study of the variability of the genetic structure of populations, which includes the assessment of genetic diversity, DNA polymorphism and genetic similarity of the studied objects. This makes it possible to judge the flow of genes, i.e. exchange of genetic material within a population or between populations, and determine the degree of their genetic differentiation, i.e. they represent different populations or one population, and in this case, they are intra-population groupings. The aim of this work was to study the molecular genetic structure of local populations of the oak lace bug *C. arcuata* in Krasnodar Krai using RAPD markers to assess their genetic similarity.

We carried out the studies in the territories of the invasive distribution of the oak lace bug in Krasnodar Krai in 2020. The object of the research was a sample of insects ($n = 20$) from the areas of oak lace bug in the forest park zones of Krasnodar, Tikhoretsk, Krymsk and Sochi. The total number of samples examined was 240. We collected *C. arcuata* bugs on model trees of English oak (*Quercus robur* L.). The selection of trees was 10 oak trees from each locality. Isolation of DNA from whole insects (adults), amplification RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA) and electrophoresis were carried out according to the method we had developed earlier (Kil, 2009). Amplification was performed in 25 μ l reaction mix containing 10 mM Tris-HCl, pH 9.0; 50 mM KCl; 3.0 mM MgCl₂; 50 μ M of each dNTP; 0.8 μ M primer; 0.5 U Taq polymerase and 20 ng DNA. We evaluated DNA polymorphism of the studied samples from the population of bugs using three primers highly specific for the DNA of the oak lace bug: OPA07, OPA09, OPA18 (See Fig. 1 and Table 1). We assessed genetic diversity and genetic similarity using the Nei and Shannon information indices with the help of POPGENE computer program (version 1.31) (Yeh et al., 1999). The statistical significance of the differences between the mean values for the sample was determined by the Student's *t*-test ($p < 0.05$).

Molecular genetic analysis of *C. arcuata* revealed high levels of DNA polymorphism and genetic diversity in the oak lace bug population and the absence of significant

differences between the samples for these parameters (See Table 2). The studies have shown that the closest in genetic terms are the samples from Tikhoretsk and Krymsk (genetic identity (GI) = 0.998; genetic distance (GD) = 0.003), and the most genetically distant from others are the Krasnodar and Sochi intra-population groupings (GI = 0.942; GD = 0.06) (See Table 4). This was also demonstrated by the cluster analysis of data (See Fig. 2). Genetic diversity, estimated by Nei index, within four geographic samples ($H_s = 0.275$) was 93.2% of the total genetic diversity in the lace bug population ($H_t = 0.295$) (See Table 3). This indicates a significant level of gene flow between intra-population groupings ($N_m = 6.98$), which prevents their differentiation. The low value of the coefficient of genetic differentiation ($G_{st} = 0.07$) indicates that only 6.8% of the total genetic variability of the population is accounted for by the variability between intra-population groupings. Based on this, we can conclude that the analyzed insect samples represent intra-population groupings from one population of oak lace bugs, *C. arcuata*.

The paper contains 2 Figures, 4 Tables and 39 References.

Key words: *Corythucha arcuata*; insects; PCR; RAPD analysis; genetic variability; intra-population groupings

Abbreviations: GI - Genetic Identity; GD - Genetic Distances.

Funding: The reported study was funded by the Russian Foundation for Basic Research and the Administration of Krasnodar Krai (Scientific Project No. 19-44-233009 r_mol_a) and within the framework of the State Assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (Research Work Topic No. 0686-2019-0012).

The Authors declare no conflict of interest.

References

1. Froeschner RC, Miller LT. *Corythucha melissa*, a new species of lace bug (Heteroptera: Tingidae) from manzanita in California. *Entomological News*. 2002;113(2):94-96.
2. Bernardinelli I, Zandigiacomo P. First record of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say) (Heteroptera, Tingidae) in Europe. *Informatore Fitopatologico*. 2000;12:47-49.
3. EPPO, 2019. *Corythucha arcuata* (Crthar). [Electronic resource]. Available at: <https://gd.eppo.int/taxon/CRTHAR/distribution> (accessed: 01.02.2021).
4. *Edinyy perechen' karantinnykh ob'ektov Evraziyskogo ekonomicheskogo soyuza. Uverzhden Resheniem Soveta Evraziyskoy ekonomicheskoy komissii ot 30 noyabrya 2016. № 158* [Unified list of quarantine facilities of the Eurasian Economic Union] [Electronic resource]. Available at: <https://legalacts.ru/doc/reshenie-soveta-evraziiskoi-ekonomicheskoi-komissii-ot-30112016-n-158/> (accessed: 01.06.2021). In Russian
5. Gninenko YuI, Khegay IV, Vasil'yeva UA. Klop dubovaya kruzhevitsa - novyy opasnyy invayder v lesakh Rossii [Oak lace bug - new dangerous invader in the forests of Russia]. *Karantin rasteniy. Nauka i praktika*. 2017;4(22):9-12. In Russian
6. Gninenko YuI. Identification of invasive bugs in Russian forests. Pushkino: VNIILM Publ.; 2018. 32 p. [Electronic resource]. Available at: <http://www.vniilm.ru/docs/pdf/izdaniya/posobie-po-klopam.pdf> (accessed: 01.06.2021). In Russian
7. Gninenko YuI, Chernova UA, Rakov AG, Gimranov RI, Khegay IV. Metodicheskie rekomendatsii po zashchite ot dubovogo klopa-kruzhevitsy (dlya proizvodstvennoy proverki) [Guidelines for protection against the oak lace bug (for production check)]. Pushkino: VNIILM Publ.; 2019. 28 p. In Russian
8. Neimorovets VV, Shchurov VI, Bondarenko AS, Skvortsov MM, Konstantinov FV. First documented outbreak and new data on the distribution of *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Hemiptera: Tingidae) in Russia. *Acta Zoologica Bulgarica*. 2017;9:139-142.

9. Karpun NN, Protsenko VE, Borisov BA, Shiryayeva NV. A new record of the oak lace bug, *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae), in subtropical zone of Black Sea coast of the Caucasus with forecast of phytosanitary situation change in the region. *Evroziatskii Entomologicheskii Zhurnal*. 2018;17(2):113-119. doi: [10.15298/euroasentj.17.2.07](https://doi.org/10.15298/euroasentj.17.2.07) In Russian, English Summary
10. Shchurov VI, Zamotajlov AS, Bondarenko AS, Shchurova AV, Skvortsov MM, Glushchenko LS. The oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) in the Northwestern Caucasus: phenology, biology, monitoring of the territorial expansion and harmfulness. *Izvestia Sankt-Peterburgskoy lesotekhnicheskoy akademii*. 2019;228:58-87. doi: [10.21266/2079-4304.2019.228.58-87](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2019.228.58-87) In Russian, English Summary
11. Shchurov VI, Bondarenko AS, Skvortsov MM, Shchurova AV. Alien forest insect pests revealed in the Northwest Caucasus in 2010-2016 and consequences of their uncontrolled dispersal. *Izvestia Sankt-Peterburgskoy lesotekhnicheskoy akademii*. 2017;220:212-228. doi: [10.21266/2079-4304.2017.220.212-228](https://doi.org/10.21266/2079-4304.2017.220.212-228) In Russian, English Summary
12. *Ministerstvo sel'skogo khozyaystva Rossiyskoy Federatsii, Yuzhnoe mezhhregional'noe Upravlenie Rossel'khoz nadzora. Perechen 'karantinnykh ob'ektov* [Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Southern Interregional Directorate of Rosselkhoz nadzor. List of quarantine objects]. [Electronic resource]. Available at: <http://rsn.krasnodar.ru/otkrytye-dannye/7149/perechen-karantinnykh-obektov/> (accessed: 01.06.2021).
13. Stryukova NM, Omelyanenko TZ, Golub VB. *Corythucha arcuata* in the Republic of Crimea. *Plant Protection and Quarantine*. 2019;9:43-44. In Russian, English Summary
14. Shchurov VI, Zamotajlov AS, Shchurova AV. Osobennosti sezonnogo tsikla i ekologii kruzhevniitsy dubovoy *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) v prirodnykh zonakh i vysoznykh poiyasakh Zapadnogo Kavkaza (Heteroptera: Tingidae) [Features of the seasonal cycle and ecology of the oak lace bug *Corythucha arcuata* (Say, 1832) (Heteroptera: Tingidae) in natural zones and high-altitude zones of the Western Caucasus (Heteroptera: Tingidae)]. In: *Biosfera i chelovek. Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii* [Biosphere and Man. Proc. of the Int. Sci. Conf. (Maykop, Adygeya Republic, Russia, 24-25 October 2019)]. Shakhanova AV, editor. Maykop: OOO "Elektronnye izdatel'skie tekhnologii" Publ.; 2019. pp. 118-120. In Russian
15. Borisov BA, Karpun NN, Bibin AR, Grabenko EA, Shiryayeva NV, Lyanguzov ME. New data on trophic relations of the invasive oak lace bug *Corythucha arcuata* (Heteroptera: Tingidae) in the Krasnodar region and in the republic of Adygea based on the research findings for the year 2018. *Subtropical and Ornamental Horticulture*. 2018;67:188-203. doi: [10.31360/2225-3068-2018-67-188-203](https://doi.org/10.31360/2225-3068-2018-67-188-203) In Russian, English Summary
16. Ierusalimov EN. Zoogennaya defoliatsiya i lesnoe soobshchestvo [Zoogenic defoliation and forest community]. Moscow: Tovarishestvo nauchnykh izdaniy KMK Publ.; 2004. 263 p. In Russian
17. Besedina EN, Ismailov VYa. Monitoring the development of the oak lace bug (*Corythucha arcuata* Say) based on the use of atmospheric heat content. *Vestnik Tomskogo gosudarstvennogo universiteta. Biologiya = Tomsk State University Journal of Biology*. 2021;54:138-157. doi: [10.17223/19988591/54/7](https://doi.org/10.17223/19988591/54/7) In Russian, English Summary
18. Yang WY, Du YZ, Yu WW. The complete mitochondrial genome of the sycamore lace bug *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae). *Gene*. 2013;27(401):27-40. doi: [10.1016/j.gene.2013.08.087](https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.08.087)
19. Kocher A, Guilbert É, Lhuillier É, Murienn J. Sequencing of the mitochondrial genome of the avocado lace bug *Pseudocysta perseae* (Heteroptera, Tingidae) using a genome skimming approach. *Comptes Rendus Biologies*. 2015;338(3):149-160. doi: [10.1016/j.crv.2014.12.004](https://doi.org/10.1016/j.crv.2014.12.004)
20. Guilbert E, Damgaard J, D'Haese CA. Phylogeny of the lacebugs (Insecta: Heteroptera: Tingidae) using morphological and molecular data. *Systematic Entomology*. 2014;39(3):431-441. doi: [10.1111/syen.12045](https://doi.org/10.1111/syen.12045)

21. Golub NV, Golub VB, Kuznetsova VG. Further evidence for the variability of the 18S rDNA loci in the family Tingidae (Hemiptera, Heteroptera). *Comparative cytogenetics*. 2016;10(4):517-528. doi: [10.3897/CompCytogen.v10i4.9631](https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v10i4.9631)
22. Yang WY, Tang XT, Ju RT, Zhang Y, Du YZ. The population genetic structure of *Corythucha ciliata* (Say) (Hemiptera: Tingidae) provides insights into its distribution and invasiveness. *Scientific Reports*. 2017;7(1):635. doi: [10.1038/s41598-017-00279-5](https://doi.org/10.1038/s41598-017-00279-5)
23. Yang XM, Sun JT, Xue XF, Li JB, Hong XY. Invasion genetics of the western flower thrips in China: evidence for genetic bottleneck, hybridization and bridgehead effect. *PLoS One*. 2012;7(4):34567. doi: [10.1371/journal.pone.0034567](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034567)
24. Ascunce MS, Yang CC, Oakey J, Calcaterra L. Global invasion history of the fire ant *Solenopsis invicta*. *Science*. 2011;331(6020):1066-1068. doi: [10.1126/science.1198734](https://doi.org/10.1126/science.1198734)
25. Ciosi M, Miller NJ, Kim KS, Giordano R, Estoup A, Guillemaud T. Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. *Molecular Ecology*. 2008;17(16):3614-3627. doi: [10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03866.x)
26. Li F, Wang R, Qu C, Fu N, Luo C, Xu Y. Sequencing and characterization of the invasive sycamore lace bug *Corythucha ciliata* (Hemiptera: Tingidae) transcriptome. *Plos One*. 2016;11(8):1-19. doi: [10.1371/journal.pone.0160609](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160609)
27. Williams JGK, Kubelik AR, Livak KJ, Rafalski JA, Tingey SV. DNA polymorphism's amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research*. 1990;18:6531-6535.
28. Welsh J, McClelland M. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research*. 1990;18:7213-7218.
29. Stevens J, Wall R. The use of random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis for studies of genetic variation in populations of the blowfly *Lucilia sericata* (Diptera: Calliphoridae) in southern England. *Bulletin of Entomological Research*. 1995;85:549-555. doi: [10.1017/S000748530003305](https://doi.org/10.1017/S000748530003305)
30. Kil VI. Usage of high specific RAPD primers for PCR analysis of harmful and benefit insect populations. *Doklady Rossiyskoy Akademii Sel'sk Khozyaystvennyh Nauk*. 2014;6:21-25. In Russian
31. Kavar T, Pavlovčič P, Sušnik S, Meglič V, Virant-Doberlet M. Genetic differentiation of geographically separated populations of the southern green stink bug *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Bulletin of Entomological Research*. 2006;96(2):117-128.
32. Kil VI. Using RAPD PCR method for studying DNA polymorphism of agricultural importance arthropods. *Agricultural Research & Technology: Open Access Journal*. 2017;9(4):555769. doi: [10.19080/ARTOAJ.2017.09.555769](https://doi.org/10.19080/ARTOAJ.2017.09.555769)
33. Kil VI. Metodika otsenki DNK polimorfizma populyatsiy nasekomykh s pomoshch'yu PTsR (RAPD- i ISSR-PCR). Metodicheskie rekomendatsii [Methods for assessing DNA polymorphism of insect populations by PCR (RAPD- and ISSR-PCR). Methodical recommendations]. Krasnodar: OOO «Prosveshchenie-Yug» Publ.; 2009. 16 p. In Russian
34. Besedina EN, Kil VI. Molecular-genetic analysis of different species of lace bugs (Heteroptera: Tingidae) with RAPD markers. *Sadovodstvo i vinogradarstvo = Horticulture and viticulture*. 2019;6:21-25. doi: [10.31676/0235-2591-2019-6-21-25](https://doi.org/10.31676/0235-2591-2019-6-21-25) In Russian, English Summary
35. Besedina EN, Kil VI, Karpunin MN. Vysokospetsificheskie RAPD-praymery dlya PTsR-analiza klopov-kruzhevnits (Heteroptera: Tingidae) [Highly specific RAPD primers for PCR analysis of lace oak bugs (Heteroptera: Tingidae)]. In: *Biosfera i chelovek*. Materialy mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii [Biosphere and Man. Proc. of the Int. Sci. Conf. (Maykop, Adygeya Republic, Russia, 24-25 October 2019)]. Shakhanova AV, editor. Maykop: OOO "Elektronnye izdatel'skie tekhnologii" Publ.; 2019. pp. 17-18. In Russian

36. Besedina EN, Kil VI. Universal RAPD and ISSR primers for lace bugs PCR analysis (Heteroptera: Tingidae). In: *Sostoyanie i perspektivy razvitiya agropromyshlennogo kompleksa*. Yubileyny sbornik nauchnykh trudov XIII Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii, posvyashchennoy 90-letiyu Donskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta (Rostovskogo-na-Donu instituta sel'khoz mashinostroyeniya), v ramkakh XXIII Agropromyshlennogo foruma yuga Rossii i vystavki "Interagromash" [State and prospects for the development of the agro-industrial complex. Proc. of the Int. Sci. Conf. (Rostov-on-Don, 26-28 February 2020)]. Lachuga YuF, Meskhi BCh, Matishov GG, Chikindas ML, Rudoy DV, Pakhomov VI, Ol'shevskaya AV, Ponomareva YEN and Doroshenko AA, editors. Rostov-on-Don: OOO "DGTU-PRINT" Publ.; 2020. Vol. 1. pp. 393-396. doi: [10.23947/interagro.2020.1.393-396](https://doi.org/10.23947/interagro.2020.1.393-396) In Russian
37. Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis, version 1.31. Computer program and documentation. Edmonton: University of Alberta and Centre for International Forestry Research; 1999. 29 p.
38. Slatkin M. Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 1985;39:53-65.
39. Besedina E, Kil V, Ismailov V, Karpunina M. Molecular genetic analysis and phenology of the plane lace bug *Corythucha ciliata* Say (Hemiptera: Tingidae) in different parts of Krasnodar Krai. *BIO Web of Conferences*. XI International Scientific and Practical Conference "Biological Plant Protection is the Basis of Agroecosystems Stabilization". 2020;21:e00011. doi: [10.1051/bioconf/20202100011](https://doi.org/10.1051/bioconf/20202100011)

*Received 02 March 2021; Revised 30 June 2021;
Accepted 27 July 2021; Published 29 September 2021.*

Author info:

Besedina Ekaterina N, Cand. Sci. (Biol.), Senior Researcher, Sector of Biotechnology, FSBSI "Federal Scientific Center of Biological Plant Protection", p/o 39, Krasnodar 350039, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9976-5614>

E-mail: katrina7283@yandex.ru

Kil Vladimir I, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Department of Geoecology and Environmental Management, FSBEI HE "Kuban State University", 149 Stavropolskaya Str., Krasnodar 350039, Russian Federation.

ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-3762-9019>

E-mail: vlkil@inbox.ru