

Обзоры, проблемы

УДК 632.2:595.752.2:632.911.2:575.2

doi: 10.15389/agrobiology.2026.1.3rus

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПОДХОДЫ К ИССЛЕДОВАНИЮ
ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ЧЕРЕМУХОВО-ЗЛАКОВОЙ ТЛИ
Rhopalosiphum padi L.*
(обзор)

Н.С. КЛИМЕНКО[✉], А.Б. ВЕРЕЩАГИНА, Е.С. ГАНДРАБУР

Черemuхово-злаковая тля *Rhopalosiphum padi* L. — важный вредитель злаковых культур. Этот вид может вызывать значительные экономические потери в сельском хозяйстве, из-за чего представляет интерес для активного изучения. Высокая экологическая адаптивность *R. padi* обусловлена особенностями ее жизненного цикла и усложняет борьбу с этим вредителем (A.F.G. Dixon, 1976; A.B.M. Austin с соавт., 1996; A.A. Hoffmann с соавт., 2008; С.-А. Dedryver с соавт., 2010; S. Macfadyen с соавт., 2012; M. Savaris с соавт., 2013). Изучение генетического разнообразия *R. padi* имеет ключевое значение для успешного менеджмента популяций вредителя. Для контроля состояния популяций тлей сначала использовали только фенотипические методы, но разработка и дополнение их молекулярно-генетическими методами открыли новые возможности и позволили значительно ускорить анализ разнообразия *R. padi*. Цель настоящей публикации состояла в обзоре молекулярно-генетических подходов, применяемых для изучения популяционной структуры *Rhopalosiphum padi* за рубежом, поскольку аналогичные работы в России пока единичны. Научная новизна работы состоит в комплексном рассмотрении различных подходов — от классических методов аллозимного полиморфизма до современных геномных технологий — и оценке их информативности для изучения генетического разнообразия вредителя. В последние десятилетия для молекулярных исследований *R. padi* стали применять молекулярные методы, такие как аллозимный и рестрикционный анализы, RAPD-маркеры, SSR-генотипирование и секвенирование (F. Delmotte с соавт., 2001; I. Valenzuela с соавт., 2010; R. Rakauskas с соавт., 2014; A. Gilabert с соавт., 2015; X. Duan с соавт., 2016; W. Sun с соавт., 2022; J. Guo с соавт., 2023). Аллозимный анализ показал низкое аллельное разнообразие соответствующих локусов *R. padi*, что снижает его пригодность для определения генетической структуры популяций тли (H.D. Loxdale, C.P. Brookes, 1990; P.D.N. Hebert с соавт., 1991; Simon J.-C. с соавт., 1995). По результатам рестрикционного анализа митохондриальной ДНК была обнаружена связь между вариантами жизненного цикла *R. padi* и гаплотипами мтДНК, однако этот метод также оказался недостаточным для изучения генетического разнообразия тли по причине низкого уровня установленного с его помощью полиморфизма (D.A. Martinez-Torres с соавт., 1996, 1997; J.-C. Simon с соавт., 1996; F. Delmotte с соавт., 2001). RAPD-анализ, хотя и обладает преимуществом универсальности, поскольку не требует точного знания последовательности ДНК объекта, но показал невысокий уровень полиморфизма этого типа маркеров (S.R. Bulman с соавт., 2005; J.-C. Simon с соавт., 1996; D. Martinez-Torres с соавт., 1997; R.M. Tabikha с соавт., 2016). Популярным методом для изучения популяций *R. padi* стало SSR-генотипирование вследствие сравнительно лучшей дифференцирующей способности маркеров и более высокого полиморфизма выбранных локусов (F. Delmotte с соавт., 2001, 2002; A. Gilabert с соавт., 2009, 2015; I. Valenzuela с соавт., 2010; X. Duan с соавт., 2016; M.E. Rubio-Meléndez с соавт., 2019). В настоящей публикации особое внимание уделено современным подходам, основанным на секвенировании отдельных генов (*COI*, *COII*, *ND4*, *Cytb*, *EF-1*) и полногеномных данных. Секвенирование участков отдельных генов открыло новые возможности для исследований, позволяя выявлять различия на уровне отдельных нуклеотидов (C. Simon с соавт., 1994; M. Hargy с соавт., 1998; J. Tur inavi iené с соавт., 2006; I. Valenzuela с соавт., 2010; R. Rakauskas с соавт., 2014; K. Wang с соавт., 2018; Н.В. Алпатьева с соавт., 2022; W. Sun с соавт., 2022; J. Guo с соавт., 2023; Е.Е. Радченко, с соавт., 2024). Полное секвенирование генома *R. padi* дает исчерпывающую информацию о генетическом разнообразии тли, но остается трудоемким и мало распространенным (R. Morales-Nojas с соавт., 2020; P. Thorpe с соавт., 2018). В то же время обнародование первой аннотированной полногеномной последовательности ядерной ДНК *R. padi*, опубликованной в базе NCBI (ASM2088224v1) китайскими учеными, открывает новые перспективы для сравнительных популяционных исследований данного организма (China Agricultural University, г. Пекин, Китай). Ряд авторов успешно комбинировали различные молекулярные методики, например SSR-анализ и секвенирование гена *COI* или рестриктию митохондриальной ДНК с RAPD-маркерами, что повысило точность и информативность результатов (I. Valenzuela с соавт., 2010; J.-C. Simon с соавт., 1996). В целом, анализ современных молекулярно-генетических методов и результатов их использования для изучения популяционной структуры *R. padi* за рубежом

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-76-10009.

служит основанием для проведения подобных работ в России с целью генетического контроля адаптивной изменчивости вредителя.

Ключевые слова: *Rhopalosiphum padi*, генетическая структура популяций, молекулярно-генетические методы, аллельный полиморфизм.

Черемухово-злаковая тля *Rhopalosiphum padi* L. (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae) относится к важным вредителям злаковых культур (1-4). Ущерб посевам, наносимый этими насекомыми, связан с повреждением тканей растений из-за сосущего типа питания *R. padi*, высокой скоростью размножения и расселения тли (5, 6), а также переносом вирусов — возбудителей многих заболеваний, в том числе желтой карликовости ячменя (7-9). Высокой экологической адаптивности этого вредителя способствует сложный тип жизненного цикла, включающего партеногенетическое и обоеполое размножение (голоциклия) (10-13).

Партеногенез (существование популяций в виде клонов) тли обеспечивает быстрое нарастание численности и имеет место с весны до осени на злаковых растениях, тогда как осенью на первичном хозяине, черемухе *Prunus padus* L., появляется половое поколение *R. padi*, происходит спаривание и откладка яиц (14-17). Также существуют регионы, где черемухово-злаковая тля утратила обоеполое размножение (анголоциклия) и круглый год размножается партеногенетически на злаках (18-21). Иногда голоциклические и анголоциклические популяции *R. padi* могут даже сосуществовать в одной местности (22-24).

В условиях современных трансформаций в климате, флористическом разнообразии природных и антропогенных ландшафтов важны исследования генетического разнообразия насекомых-вредителей для снижения вызванных ими потерь урожая (25-28). Для контроля состояния популяций фитофагов, в том числе тлей, сначала использовали только фенотипирование, включающее определение демографических показателей (29-32), однако не все популяционные изменения можно проследить таким образом. Добавление молекулярно-генетических методов к фенотипическим значительно повысило информативность исследований о процессах, происходящих в популяциях сосущих насекомых (33-36). Кроме того, благодаря повсеместному распространению, высокой скорости воспроизведения и небольшому числу хромосом *R. padi* служит удобным объектом для изучения генетического полиморфизма тлей (37). В настоящее время не вызывает сомнений необходимость получения информации об особенностях пищевых связей и эколого-географической структуре различных популяций этого вида.

В представленной публикации мы сравниваем молекулярно-генетические методы, используемые исследователями из разных стран для изучения генетического разнообразия *Rhopalosiphum padi*.

Научная новизна работы состоит в комплексном рассмотрении различных подходов (от классических методов аллозимного полиморфизма до современных геномных технологий) и оценке их информативности для изучения генетического разнообразия вредителя.

Аллозимный анализ. Работам по изучению генетического разнообразия тлей с использованием молекулярно-генетических методов предшествовали попытки аллозимного анализа (38-41). Этот метод основан на свойствах аллозимов — молекулярных форм определенного фермента, синтез которых контролируется разными аллелями одного гена. К преимуществам аллозимов относится то, что они являются кодоминантными, следо-

вательно, с помощью белкового электрофореза можно обнаружить все продукты экспрессии соответствующих аллелей (42, 43).

Однако при работе с аллозимами у тлей, включая *R. padi*, исследователи столкнулись с проблемой низкого аллельного разнообразия соответствующих локусов (44–47), что затрудняет определение структуры популяций и указывает на необходимость использования других, например молекулярных, маркеров, которые могут выявить скрытую изменчивость на уровне последовательности ДНК (48, 49).

Рестрикционный анализ митохондриальной ДНК. Следующим способом, который был использован для изучения популяционной структуры *R. padi*, стал рестрикционный анализ ДНК (50–53). В отличие от аллозимного метода, исследование полиморфизма длин фрагментов, получающихся с помощью ферментов-рестриктаз (эндонуклеаз), позволяет анализировать последовательность ДНК тли (54–57). Особенно показателен для отслеживания недавней эволюционной истории вида *R. padi*, включая моменты интродукции в новые места обитания, полиморфизм митохондриальной ДНК (мтДНК), наследуемой по материнской линии (51–53, 58).

Рестриктазами обрабатывали как целую фракцию мтДНК (50, 51), так и сегмент митохондриального генома длиной 2200 п.н., включающий ген субъединицы 1 гена НАД-дегидрогеназы (ND1) и части генов 16S и цитохрома b (52, 53, 58). Показано, что за немногочисленными исключениями неполному жизненному циклу соответствовал один гаплотип мтДНК (авторы обозначали его как hI), а полному жизненному циклу — другой (hII) (51–53, 58). Стоит отметить, что в литературе сообщалось также об идентификации этим методом у голоциклических популяций минимально отличимых от hII гаплотипов — hIII и hIV, суммарная доля которых не превышала 7 % от объема изученной выборки и которые учитывали вместе со вторым гаплотипом (51–53).

Таким образом, с помощью рестрикционного анализа была показана связь между типом жизненного цикла и типом мтДНК у *R. padi* (51–53, 58). Интересно, что из 16 протестированных эндонуклеаз J.-С. Simon с соавт. (52) отметили два фермента рестрикции (EcoRI, SspI) как достаточные для различения гаплотипов у *R. padi* в амплифицированном участке мтДНК длиной 2200 п.н. Это заключение позволило сократить перечень рестриктаз, задействованных для определения гаплотипа мтДНК (53, 58).

Из сложившейся закономерности выбивались клоны с неполным жизненным циклом, неожиданно отнесенные к гаплотипу hII. Согласно данным литературы, причины могли быть следующими: вторичная потеря полового процесса среди голоциклических линий из-за мутации в локусе, контролирующем производство половых самок; возможность периодического потока ядерных генов между голоциклическими и неполноциклическими популяциями (последние в таком случае называют андроциклическими из-за иногда появляющихся в их составе самцов) (51–53).

Несмотря на пользу от обнаружения связи между вариантами жизненного цикла *R. padi* и гаплотипами мтДНК, для изучения генетического разнообразия тли рестрикционный анализ оказался явно недостаточным вследствие низкого установленного с его помощью полиморфизма — максимум четыре гаплотипа (51–53, 58). В более поздних исследованиях рестрикционный анализ мтДНК использовался как дополнение к методикам, основанным на принципах полимеразной цепной реакции (ПЦР) (58).

SSR-генотипирование. С распространением метода ПЦР SSR-генотипирование (simple sequence repeats) стало мощным инструментом, широко применяемым для изучения генетической структуры популяций различных видов тлей-вредителей, например *Sitobion miscanthi* Takahashi (59), *Sitobion avenae* Fabricius (60, 61), *Aphis gossypii* Glover (61, 62), *Myzus persicae* Sulzer (63), *Diuraphis noxia* Kurdjumov (64) и т.д. Для изучения генетического разнообразия *R. padi* J.-C. Simon с соавт. (65) — исследователи из Франции разработали маркеры 11 микросателлитных локусов ядерной ДНК, из которых после апробации на 55 партеногенетических линиях были отобраны восемь наиболее полиморфных: R5.29.b, R6.3 (1-я хромосома), R1.35, R5.10, R5.138 (2-я хромосома), R3.171, R5.50 (3-я хромосома), R2.73 (4-я хромосома).

Разработчики особо подчеркнули высокую чувствительность отобранных SSR-маркеров, которые позволили обнаружить несколько копий одних и тех же генотипов *R. padi* в анализируемой выборке, что подтверждает значимость микросателлитов в популяционно-генетических исследованиях партеногенетических организмов (65). Примечательно, что маркеры из этого набора в настоящее время наиболее часто используются для микросателлитного генотипирования популяций *R. padi* из разных стран — Франции (49, 58, 66, 67), Китая (68), Австралии (19), Чили (21) (табл. 1).

В то же время в литературе имеются сведения об изучении популяционного разнообразия *R. padi* с использованием указанного выше набора из восьми SSR-маркеров не в полном составе (19, 68) или в сочетании с маркерами, разработанными другими авторами (49, 58, 66, 67). Следует отметить, что существуют данные о возможных методических проблемах при работе с некоторыми маркерами из набора J.-C. Simon с соавт. (65), например R1.35, R6.3 и R5.138 (21, 69) (см. табл. 1).

Кроме того, в дополнение к упомянутым восьми маркерам для генотипирования популяций *R. padi* могут быть применены SSR-маркеры S17b и S16b (59), разработанные с использованием генетического материала тли *S. miscanthi* (49, 61) (см. табл. 1).

На примере популяции *R. padi*, собранной во Франции, F. Delmotte с соавт. (49) наглядно продемонстрировали преимущество использования рассмотренных SSR-маркеров (61, 65) по сравнению с аллозимными: число детектированных аллелей микросателлитных маркеров варьировало от 4 до 25 на локус (см. табл. 1), тогда как аллозимные маркеры были менее полиморфными (2-4 аллеля на локус). В общей сложности во всех семи изученных SSR-локусах был идентифицирован 81 аллель, а в четырех аллозимных локусах — 13 аллелей.

По результатам секвенирования транскриптома *R. padi* исследователи из Китая (70) разработали еще ряд SSR-маркеров. В итоге авторы отобрали 14 наиболее полиморфных микросателлитных локусов, которые были задействованы для генотипирования популяций *R. padi* (по 12 партеногенетических клонов) из четырех провинций Китая (70) (табл. 2). Однако широкого распространения эти маркеры пока не приобрели.

В целом, в настоящее время для изучения генетического разнообразия *R. padi* доступны маркеры 24 микросателлитных локусов, большая часть из которых (10 локусов) находится на 2-й хромосоме (59, 65, 70) (см. табл. 1, 2). К сожалению, не во всех работах, где они были задействованы, исчерпывающе описаны результаты применения этих SSR-маркеров (см. табл. 1). Такая ситуация затрудняет оценку информативности маркеров микросателлитных локусов для генетических исследований.

1. ДНК-маркеры SSR локусов, разработанные J.-C. Simon с соавт. (65) и A. Wilson с соавт. (59), и использованные в работах по изучению генетического разнообразия *Rhopalosiphum padi* L.

Страна сбора	Объем выборки	Показатель	Локус и номер хромосомы, содержащей локус										Ссылка
			R5.29.b	R6.3	R1.35	R5.10	R5.138	R5.50	R3.171	R2.73	S16b	S17b	
			1-я	1-я	2-я	2-я	2-я	3-я	3-я	4-я	2-я	3-я	
Франция	55 клонов	Na	17	5	10	8	20	25	15	6	—	—	(65)
		ДР	161-216	161-183	345-360	256-274	211-287	297-403	214-252	262-285	—	—	
		PIC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	—	—	
Франция	384 клон	Na	25	5	16	14	—	—	—	9	4	8	(49)
		ДР	159-209	161-183	341-360	248-276	—	—	—	262-285	149-155	158-172	
		PIC	nd	nd	nd	nd	—	—	—	nd	nd	nd	
nd	384 клон	Na	—	—	—	—	—	—	—	—	4	8	(61)
		ДР	—	—	—	—	—	—	—	—	149-155	158-172	
		PIC	—	—	—	—	—	—	—	—	nd	nd	
Австралия	510 клонов	Na	8	—	—	8	13	15	6	8	—	—	(19)
		ДР	161-201	—	—	255-272	211-263	299-343	227-294	246-286	—	—	
		PIC	nd	—	—	nd	nd	nd	nd	nd	—	—	
Иран	35 клонов	Na	3	2	Методические проблемы	1	Методические проблемы	2	5	4	—	—	(69)
		ДР	nd	nd	—	nd	—	nd	nd	nd	—	—	
		PIC	0,1028	nd	—	nd	nd	nd	0,338	nd	—	—	
Китай	369 клонов	Na	—	—	—	14	31	12	21	24	—	—	(68)
		ДР	—	—	—	253-292	221-292	292-333	229-292	243-317	—	—	
		PIC	—	—	—	nd	nd	nd	nd	nd	—	—	
Чили	377 клонов	Na	12	Методические проблемы	Методические проблемы	14	9	14	10	10	—	—	(21)
		ДР	179-249	—	—	263-319	171-253	308-344	227-259	279-309	—	—	
		PIC	0,47	—	—	0,56	0,30	0,14	0,45	0,46	—	—	

Примечание. Na — число выявленных аллелей в указанном локусе, ДР — диапазон размеров детектированных фрагментов (число нуклеотидов), PIC — информативность полиморфизма (polymorphism information content); nd — отсутствие информации, маркер был в анализе, но статистические данные для него не приведены или не могут быть рассчитаны при чтении; прочерки означают, что маркер в работе не использовался.

2. ДНК-маркеры SSR локусов, разработанные X. Duan с соавт. (70) и использованные для изучения четырех китайских популяций *Rhopalosiphum padi* L.

Место сбора	Показатель	Локус, номер хромосомы, диапазон размеров детектированных фрагментов, п.н.													
		RP06	RP24	RP30	RP43	RP08	RP13	RP14	RP23	RP31	RP48	RP42	RP45	RP22	RP60
		1-я 148-168	1-я 146-166	1-я 144-168	1-я 120-140	2-я 133-153	2-я 146-166	2-я 146-166	2-я 150-170	2-я 143-167	2-я 141-165	2-я 129-149	3-я 125-145	3-я 147-171	4-я 145-172
п. Ганьсу	Na	7	2	3	3	3	4	4	5	5	3	7	5	4	2
	PIC	0,67	0,36	0,47	0,34	0,43	0,56	0,48	0,64	0,63	0,42	0,76	0,66	0,54	0,38
п. Шэньси	Na	6	3	2	4	2	5	3	6	4	3	9	6	5	4
	PIC	0,73	0,41	0,35	0,43	0,37	0,57	0,31	0,64	0,63	0,40	0,77	0,61	0,75	0,43
п. Хубэй	Na	5	2	3	3	2	3	3	4	4	3	6	3	4	4
	PIC	0,49	0,38	0,34	0,34	0,37	0,48	0,48	0,64	0,60	0,41	0,64	0,47	0,59	0,52
п. Гирин	Na	5	2	3	4	3	4	2	5	5	4	4	6	5	3
	PIC	0,58	0,28	0,45	0,22	0,43	0,58	0,33	0,51	0,55	0,47	0,56	0,49	0,62	0,41

Примечание. Na — число выявленных аллелей в указанном локусе, PIC — информативность полиморфизма (polymorphism information content); п. — провинция.

3. ПЦР праймеры, применяемые для секвенирования отдельных участков генов с целью изучения генетического разнообразия *Rhopalosiphum padi* L. и других видов тлей

Ген	Разработчики праймеров	Названия прямого и обратного праймеров	Размер фрагмента, п.н.	Цель использования										
				ДНК-штрихкодирование для различения нескольких видов тлей					изучение генетического разнообразия популяций <i>R. padi</i>					
				страна сбора	N	N _h	Hd	ссылка	страна сбора	N	N _h	Hd	ссылка	
COI	O. Folmer с соавт. (85)	LCO1490; HC02198	710	Австралия	15	2	nd	(79)	Австралия	510	4	nd	(19)	
				Южная Корея	8	1	nd	(80)	Литва (13), Латвия (4), Эстония (1), публично доступные сиквенсы (26)	44	10	nd	(82)	
				Кения				(81)						
	C. Simon с соавт. (86)	C1-J-1751; C1-N-2191	440	США, Канада, Германия, Япония				(77)	Китай	287	3	0,53249	83)	
	R.G. Footitt с соавт. (87)	LepF; LepR	700	Ирак				(90)						
				Китай				(91)	Китай	275	7	0,491	(92)	
				Китай				(90)						
COI COII	J. Guo с соавт. (84)	F; R	597	Нет сведений об использовании этой пары праймеров для изучения других видов тлей					Китай (467), Бельгия (14), Люксембург (4), Франция (27), Германия (23)	535	29	0,663	(84)	
		F; R	615											
Cytb EF-1α	M. Nagy с соавт. (88)	CP1; CP2	800	Китай				(90)	Китай	275	15	0,607	(92)	
	J. Turčīnavičiēnē с соавт. (78)	EloaphisF; EloaphisR	500	Литва				(78)	Литва (13), Латвия (4), Эстония (1), публично доступные сиквенсы (2)	20	4	nd	(82)	
									Китай (467), Бельгия (14), Люксембург (4), Франция (27), Германия (23)	535	32	0,507	(84)	
ND4	Н.В. Алпатьева с соавт. (89)	RpND4-F; RpND4-R	438	Россия	Более 1000	4	nd	(89)	Россия	Более 1000	30	nd	(93)	

Примечание. N — число проанализированных особей *R. padi*, N_h — число детектированных гаплотипов *R. padi*, Hd — индекс разнообразия гаплотипов (haplotype diversity); nd — статистические данные не приведены. Числа, указанные в скобках рядом с названиями отдельных стран, обозначают число клонов, собранных для анализа в этой стране. Прочерки означают, что *R. padi* в анализе отсутствовала.

Однако некоторые важные характеристики микросателлитных маркеров, например информативность полиморфизма (polymorphism information content, PIC) или число выявленных аллелей в локусе, авторы либо приводили сами (19, 49, 65, 69), либо предоставляли возможность рассчитать читателю (21). На основании этих показателей особенно выделяются разработанные J.-C. Simon с соавт. (65) маркеры локусов R5.50 и R5.29.b с 25 детектированными аллелями (49, 65), что было максимальным значением среди 24 маркеров. В то же время в литературе показатели PIC всех маркеров, разработанных французскими учеными, не превышали 0,56 (21, 69) (см. табл. 1).

Для SSR-маркеров, разработанных X. Duan с соавт. (70), можно наблюдать иную картину: число выявленных аллелей составляет не более 9, но показатель PIC превышает значение 0,7 для маркеров RP06, RP42, RP22 (см. табл. 2).

Таким образом, нельзя однозначно сделать вывод о том, какие маркеры микросателлитных локусов наиболее эффективны при изучении генетического разнообразия *R. padi*, но большое число доступных вариантов дает широкие возможности для исследований.

RAPD-маркеры. В отличие от SSR-маркеров, RAPD-анализ не требует точного знания последовательности ДНК объекта исследований, благодаря чему этот метод был выбран многими группами исследователей, установившими с его помощью соответствие популяций различных видов тлей и их географического положения, например *A. gossypii* (71, 72), *D. noxia* (40, 73), *Schizaphis graminum* Rondani (73), *S. avenae* (74) и других.

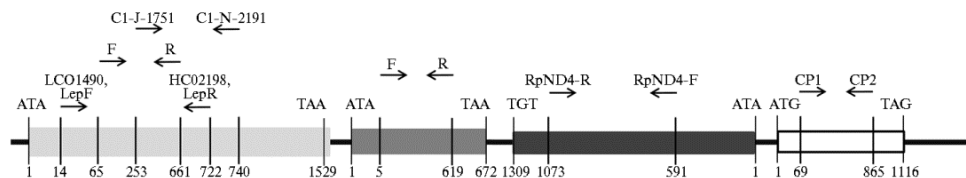
RAPD-маркеры были использованы также для изучения генетического полиморфизма популяций *R. padi* из стран Европы (52, 71), Африки (52, 75), Северной Америки (71) и Новой Зеландии (18, 76). Чаще всего для этой цели использовали RAPD-праймеры длиной 10 нуклеотидов (OPA1-OPA20) из набора, разработанного компанией «Operon Technologies» (г. Аламида, штат Калифорния, США) (52, 71, 75). Так, с помощью RAPD-праймеров исследователи из Египта смогли разделить местные популяции *R. padi* на два кластера (75). J.-C. Simon с соавт. (65) отметили эффективность использования RAPD-праймера OPA-18, поскольку два полученных с его помощью профиля однозначно соответствовали голоциклическому или андроциклическому типу жизненного цикла особей *R. padi*, собранных во Франции, Испании, Марокко и Великобритании.

В то же время при использовании RAPD-праймеры отмечен невысокий полиморфизм этого типа маркеров, из-за чего проанализированные популяции *R. padi* характеризовались низким генетическим разнообразием, несмотря на разное географическое происхождение собранных особей (18, 52, 71, 75).

Секвенирование участков генома. Помимо рестрикционного анализа, RAPD и SSR-маркеров, для изучения полиморфизма ДНК тлей используют секвенирование участков генома с последующим анализом однонуклеотидных различий. Причем одни и те же пары праймеров могут быть вовлечены как в процесс ДНК-штрихкодирования нескольких видов тлей с целью наглядно показать межвидовые различия (77-81), так и для изучения популяционного разнообразия отдельных видов, например, *R. padi* (19, 82-84) (табл. 3).

Митохондриальный ген субъединицы I цитохром с-оксидазы (*COI*) был выбран для этих целей как один из наиболее консервативных генов в мтДНК животных (94). В ряде статей (84-87) представлены праймеры для амплификации различных участков гена *COI* мтДНК *R. padi*, которые сами

разработчики (84) или другие авторы (19, 80, 82, 83, 92) использовали для изучения полиморфизма популяций тли из разных стран (см. табл. 3; рис.). Отметим, что праймеры, созданные О. Folmer с соавт. (85) и R.G. Footit с соавт. (87), крайне схожи: пара прямых LCO1490/LepF и пара обратных праймеров HC02198/LepR имеют одинаковые места посадки на гене *COI*, а их последовательности различаются только несколькими нуклеотидами, поскольку указанные праймеры были разработаны с использованием ДНК разных групп организмов.



Взаимное расположение трех генов митохондриальной ДНК *Rhopalosiphum padi* L. и места посадки пяти пар праймеров, используемых для секвенирования участков этих генов. Светло-серым обозначен ген *COI*, пары праймеров LCO1490—HC02198 (85), C1-J-1751—C1-N-2191 (86), LepF—LepR (87), F—R (84); темно-серым — ген *COII*, пара праймеров F—R (84); темно-серым — ген *ND4*, пара праймеров RpND4-F—RpND4-R (89), белым в черной рамке — ген *Cytb*, пара праймеров CP1—CP2 (88). Стрелками показаны области отжига праймеров; цифры под стрелками соответствуют положению первого нуклеотида на 5'-конце праймера; нумерация нуклеотидов начинается со стартового кодона. Названия праймеров указаны над стрелками. В качестве референсной последовательности была взята последовательность митогенома *R. padi* KT447631.1 из базы данных NCBI (National Center for Biotechnology, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

В 2023 году J. Guo с соавт. (84) представили публикацию, в которой с использованием праймеров собственной разработки секвенировали участки не только *COI*, но и еще двух генов в популяциях *R. padi*, собранных в Китае: митохондриального *COII* (ген субъединицы II цитохром с-оксидазы) и ядерного *EF-1α* (ген фактора элонгации 1-alpha). Другая пара праймеров для секвенирования участка гена *EF-1α* была разработана J. Turčinavičiene с соавт. (78) и использована для изучения популяций *R. padi* из стран Балтии (78, 82). Пару праймеров для секвенирования участка еще одного митохондриального гена *R. padi* — *Cytb* (цитохром b) представили ученые из Китая (92). Недавно исследователи из Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова подошли к вопросу изучения популяционного разнообразия *R. padi* с помощью секвенирования фрагмента митохондриального гена *ND4*, кодирующего субъединицу 4 NADH-дегидрогеназы (89, 93) (см. табл. 3; рис.).

В общей сложности четыре пары праймеров, используемые для поиска нуклеотидного полиморфизма гена *COI* — LCO1490—HC02198 (85), C1-J-1751—C1-N-2191 (86), LepF—LepR (87), F—R (84) охватывают чуть меньше половины кодирующей области этого гена у *R. padi* — 47,5 %. Лучше обстоит дело с праймерами, разработанными для секвенирования фрагментов генов *COII* (F—R) (84) и *Cytb* (CP1—CP2) (88), поскольку в этом случае охват секвенируемого участка составляет соответственно 91 и 71 %. Наименьшее покрытие (37 и 21,5 %) доступно при секвенировании участка митохондриального гена *ND4* (праймеры RpND4-F—RpND4-R) (89) и участка ядерного гена *EF-1α* (праймеры EloaphisF—EloaphisR, F—R) (78, 84) (см. табл. 3; рис.).

При секвенировании важным статистическим показателем, позволяющим определить, насколько разнообразны аллели в исследуемой популяции, служит индекс разнообразия гаплотипов (haplotype diversity, Hd). К сожалению, значения этого показателя приведены авторами не во всех

работах, где проводили секвенирование участков генов *R. padi* (см. табл. 3). Однако сравнение доступных нам данных показывает, что наибольшего значения Hd (0,663) удалось добиться J. Guo с соавт. (84) при комбинировании результатов секвенирования участков двух генов, *COI* и *COII*. Такой подход — сочетание данных, полученных при секвенировании участков различных генов — может повысить информативность исследований с использованием указанного метода.

Таким образом, анализ однонуклеотидных замен, детектированных по результатам секвенирования различных участков генов *COI*, *COII*, *ND4*, *Cytb* и *EF-1 α* , был применен для изучения генетического разнообразия популяций *R. padi* из Европы, Азии, Австралии (см. табл. 3). Больше всего работ по секвенированию ДНК этого вида выполнено с использованием праймеров, разработанных О. Folmer с соавт. (85), однако созданные другими авторами праймеры также представляют интерес для исследований популяционного разнообразия *R. padi* (78, 84, 86, 88, 89).

SNP при полном секвенировании генома. Данные, полученные в результате полного секвенирования различных видов тлей, например *Rhopalosiphum nymphaeae* L. (95), *Aphis glycines* Matsumura (96), *Acyrtosiphon pisum* Harris (97), *S. avenae* (98), *R. padi* (99, 100), открыли новые возможности в изучении геномов этих видов. Так, R. Morales-Hojas с соавт. (99) для сравнения семи популяций *R. padi*, собранных на острове Великобритания, использовали данные, полученные при полном секвенировании ядерного генома.

Стоит отметить, что еще два полногеномных сиквенса ядерной ДНК *R. padi*, полученные двумя группами ученых из Китая, опубликованы в базе данных NCBI (National Center for Biotechnology, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) в 2021 году — ASM2088224v1 (China Agricultural University, г. Пекин, Китай) и ASM1942551v1 (Institute of Plant Physiology and Ecology, г. Шанхай, Китай). Из них первый сиквенс был аннотирован в 2023 году, благодаря чему стал еще более информативным. Хотя полногеномные последовательности, полученные китайскими учеными, не были использованы авторами для сопоставления с аналогичными данными для других популяций *R. padi*, сиквенсы ASM2088224v1 и ASM1942551v1 общедоступны и могут быть применены в популяционных исследованиях.

Потенциально однонуклеотидный полиморфизм (single-nucleotide polymorphism, SNP), установленный при полном секвенировании ядерной и митохондриальной ДНК тли, дает самую исчерпывающую информацию о генетическом разнообразии *R. padi* (99, 100). Однако на данный момент такое секвенирование все еще остается слишком трудоемким и ресурсозатратным, из-за чего широко не используется для изучения черемухово-злаковой тли.

Комбинирование различных методов в одном исследовании. В конце нашего обзора стоит отметить публикации, в которых авторы для работы с одной и той же популяцией тли использовали одновременно различные методы с целью повышения информативности исследований. Обычно в таких публикациях параллельно используют методы, позволяющие проанализировать последовательности ядерной и мтДНК.

Так, I. Valenzuela с соавт. (19) суммировали данные, полученные при изучении австралийских популяций *R. padi* с помощью методов SSR-генотипирования и секвенирования фрагмента гена *COI*. Для анализа генетического разнообразия выборки *R. padi* из трех стран Европы и Марокко J.-C. Simon с соавт. (52) сочетали рестрикционный анализ участка мтДНК длиной 2200 п.н. и RAPD-анализ, связав полученные гаплотипы с типом

жизненного цикла тли. Для изучения французской выборки *R. padi* F. Delmotte с соавт. (58) использовали SSR-маркеры и рестрикцию сегмента митохондриального генома, и полученные результаты показали, что на этой территории было как минимум три независимых случая возникновения бесполой линии у этого вида тлей.

Итак, в настоящее время доступны несколько вариантов молекулярно-генетических методов, которые используются для изучения генетического разнообразия *Rhopalosiphum padi* в разных странах мира уже более 30 лет: рестрикционный анализ, RAPD-анализ, SSR-генотипирование, секвенирование участков отдельных генов или полного генома. При этом в ряде работ авторы используют не один, а комбинацию нескольких подходов для повышения информативности полученных результатов. Молекулярно-генетические методы уже были применены для изучения популяций *R. padi*, собранных во всех частях света, кроме Антарктиды. При этом исследователи чаще выбирают микросателлитное маркирование и секвенирование как подходы, дающие наиболее полную информацию о последовательности ДНК *R. padi*. В целом, следует отметить достигнутые результаты при изучении зарубежных популяций *R. padi*. В России подобные исследования почти не проводились, и их необходимо интенсифицировать, учитывая эффективность молекулярных методов при контроле популяций вредителя.

ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: ns-klimenko@mail.ru ✉, aphidabver@gmail.com,
helenagandrabur@gmail.com

Поступила в редакцию
4 апреля 2025 года
Принята к публикации
12 мая 2025 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2026, V. 61, № 1, pp. 3-19

MOLECULAR APPROACHES TO STUDYING GENETIC DIVERSITY OF THE BIRD CHERRY-CEREAL APHIDS *Rhopalosiphum padi* L. (review)

N.S. Klimenko✉, A.B. Vereshchagina, E.S. Gandrabur

All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail ns-klimenko@mail.ru (✉ corresponding author), aphidabver@gmail.com, helenagandrabur@gmail.com

ORCID:

Klimenko N.S. orcid.org/0000-0002-5432-6466

Gandrabur E.S. orcid.org/0000-0001-9851-9799

Vereshchagina A.B. orcid.org/0000-0003-1342-5350

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Carried out within the Russian Science Foundation grant № 24-76-10009

Final revision received April 04, 2025

doi: 10.15389/agrobiol.2026.1.3eng

Accepted May 12, 2025

Abstract

The bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* L. is an important pest of cereal crops. This species can cause substantial economic losses in agriculture and therefore represents a subject of intensive research. The high ecological adaptability of *R. padi*, determined by specific features of its life cycle, significantly complicates pest control strategies (A.F.G. Dixon, 1976; A.B.M. Austin et al., 1996; A.A. Hoffmann et al., 2008; C.-A. Dedryver et al., 2010; S. Macfadyen et al., 2012; M. Savaris et al., 2013). The study of genetic diversity in *R. padi* is of key importance for effective pest population management. Initially, aphid population monitoring relied exclusively on phenotypic methods; however, the development and subsequent integration of molecular genetic approaches have opened new opportunities and substantially accelerated the analysis of *R. padi* diversity. The aim of the present study was to review molecular genetic approaches used abroad to investigate the population structure of *Rhopalosiphum padi*, as similar studies in Russia remain scarce. The scientific novelty of this work lies in a comprehensive assessment of a wide range of methods—from classical allozyme polymorphism analyses to modern genomic technologies—and in evaluating their informativeness for studying the genetic diversity of this pest. Over recent decades, molecular methods such as allozyme and restriction analyses, RAPD markers, SSR genotyping, and sequencing have been increasingly applied in studies

of *R. padi* (F. Delmotte et al., 2001; I. Valenzuela et al., 2010; R. Rakauskas et al., 2014; A. Gilabert et al., 2015; X. Duan et al., 2016; W. Sun et al., 2022; J. Guo et al., 2023). Allozyme analysis revealed low allelic diversity at the corresponding loci in *R. padi*, which limits its suitability for resolving the genetic structure of aphid populations (H.D. Loxdale & C.P. Brookes, 1990; P.D.N. Hebert et al., 1991; J.-C. Simon et al., 1995). Restriction analysis of mitochondrial DNA demonstrated an association between life-cycle variants of *R. padi* and mtDNA haplotypes; however, this method also proved insufficient for comprehensive assessment of aphid genetic diversity due to the low level of polymorphism detected (D.A. Martínez-Torres et al., 1996, 1997; J.-C. Simon et al., 1996; F. Delmotte et al., 2001). RAPD analysis, despite its advantage of universality and the absence of a requirement for prior knowledge of DNA sequences, likewise showed a low level of polymorphism in these markers (S.R. Bulman et al., 2005; J.-C. Simon et al., 1996; D. Martínez-Torres et al., 1997; R.M. Tabikha et al., 2016). SSR genotyping has become a widely used method for studying *R. padi* populations due to its comparatively higher discriminatory power and increased polymorphism of selected loci (F. Delmotte et al., 2001, 2002; A. Gilabert et al., 2009, 2015; I. Valenzuela et al., 2010; X. Duan et al., 2016; M.E. Rubio-Meléndez et al., 2019). In the present study, particular attention is given to modern approaches based on sequencing of individual genes (*COI*, *COII*, *ND4*, *Cytb*, *EF-1*) and whole-genome data. Sequencing of specific gene fragments has provided new research opportunities by enabling the detection of differences at the level of individual nucleotides (C. Simon et al., 1994; M. Harry et al., 1998; J. Tur inavi iené et al., 2006; I. Valenzuela et al., 2010; R. Rakauskas et al., 2014; K. Wang et al., 2018; N.V. Alpatyeva et al., 2022; W. Sun et al., 2022; J. Guo et al., 2023; E.E. Radchenko et al., 2024). Whole-genome sequencing of *R. padi* provides comprehensive information on aphid genetic diversity but remains labor-intensive and is still not widely applied (R. Morales-Hojas et al., 2020; P. Thorpe et al., 2018). At the same time, the publication of the first annotated nuclear genome sequence of *R. padi* in the NCBI database (ASM2088224v1) by Chinese researchers (China Agricultural University, Beijing, China) opens new perspectives for comparative population studies of this species. Several authors have successfully combined different molecular techniques, such as SSR analysis with *COI* gene sequencing or mitochondrial DNA restriction analysis with RAPD markers, thereby increasing the accuracy and informativeness of the results (I. Valenzuela et al., 2010; J.-C. Simon et al., 1996). Overall, analysis of modern molecular genetic methods and their application in studies of the population structure of *R. padi* abroad provides a solid foundation for conducting similar research in Russia aimed at genetic monitoring of the pest's adaptive variability.

Keywords: *Rhopalosiphum padi*, genetic structure of populations, molecular genetic methods, allelic polymorphism.

REFERENCES

1. Dedryver C.-A., Le Ralec A., Fabre F. The conflicting relationships between aphids and men: a review of aphid damage and control strategies. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6-7): 539-553 (doi: 10.1016/j.crv.2010.03.009).
2. Savaris M., Lampert S., Salvadori J.R., Lau D., Pereira P.R.V.S., Smaniotto M.A. Population growth and damage caused by *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera, Aphididae) on different cultivars and phenological stages of wheat. *Neotrop. Entomol.*, 2013, 42: 539-543 (doi: 10.1007/s13744-013-0158-9).
3. Shpanev A.M., Laptiev A.B., Goncharov N.R., Voropaev V.V. *Zashchita i karantin rasteniy*, 2015, 6: 14-17 (in Russ.).
4. Radchenko E.E. *Agrarnaya nauka*, 2019, S2: 135-138 (doi: 10.32634/0869-8155-2019-326-2-135-138) (in Russ.).
5. Blackman R.L., Eastop V.F. Taxonomic issues. In: *Aphids as crop pests*. H.F. van Emdan, R. Harrington (eds.). CAB International Cornwall Press, Trowbridge, UK, 2007: 1-29.
6. *Aphids as crop pests: second edition*. H.F. van Emden, R. Harrington (eds.). Wallingford, Oxfordshire, UK, 2017.
7. Parry H.R., Macfadyen S., Kriticos D.J. The geographical distribution of Yellow dwarf viruses and their aphid vectors in Australian grasslands and wheat. *Australasian Plant Path.*, 2012, 41: 375-387 (doi: 10.1007/s13313-012-0133-7).
8. Porras M., De Moraes C.M., Mesche M.C., Rajotte E.G., Carlo T.A. A plant virus (BYDV) promotes trophic facilitation in aphids on wheat. *Scientific Reports*, 2018, 8: 11709 (doi: 10.1038/s41598-018-30023-6).
9. Grauby S., Ferrer A., Tolon V., Roume A., Wezel A., Jacquot E. Can mixed intercropping protect cereals from aphid-borne viruses? An experimental approach. *Insects*, 2022, 13(6): 521 (doi: 10.3390/insects13060521).
10. Dixon A.F.G. Reproductive strategies of the alate morph of the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.). *Journal of Animal Ecology*, 1976, 45: 817-830 (doi: 10.2307/3582).
11. Austin A.B.M., Tatchell G.M., Harrington R., Bale J.S. Adaptive significance of changes in morph production during the transition from parthenogenetic to sexual reproduction in the aphid *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 1996, 86(2): 93-

- 99 (doi: 10.1017/S0007485300052317).
12. Hoffmann A.A., Tracy Reynolds K., Nash M.A., Weeks A.R. A high incidence of parthenogenesis in agricultural pests. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2008, 275(1650): 2473-2481 (doi: 10.1098/rspb.2008.0685).
 13. Macfadyen S., Kriticos D.J. Modelling the geographical range of a species with variable life-history. *PLoS ONE*, 2012, 7(7): e40313 (doi: 10.1371/journal.pone.0040313).
 14. Dixon A.F.G. The life-cycle and host preferences of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* L., and their bearing on the theories of host alternation in aphids. *Annals of Applied Biology*, 1971, 68(2): 135-147 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1971.tb06450.x).
 15. Dixon A.F.G., Glen D.M. Morph determination in the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.). *Annals of Applied Biology*, 1971, 68(1): 11-21 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1971.tb04633.x).
 16. Carter M.J., Simon J.-C., Nespolo R.F. The effects of reproductive specialization on energy costs and fitness genetic variances in cyclical and obligate parthenogenetic aphids. *Ecology and Evolution*, 2012, 2(7): 1414-1425 (doi: 10.1002/ece3.247).
 17. Vereshchagina A.B., Gandrabur E.S. Variability in the developmental parameters of bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera, Aphididae) clones during the life cycle as a genotypic adaptation. *Entomol. Rev.*, 2016, 96(8): 983-996 (doi: 10.1134/S0013873816080030).
 18. Bulman S.R., Stufkens M.A.W., Nichol D., Harcourt S.J., Harrex A.L., Teulon D.A.J. *Rhopalosiphum* aphids in New Zealand. I. RAPD markers reveal limited variability in lineages of *Rhopalosiphum padi*. *New Zealand Journal of Zoology*, 2005, 32(1): 29-36 (doi: 10.1080/03014223.2005.9518395).
 19. Valenzuela I., Ridland P.M., Weeks A.R., Hoffmann A.A. Patterns of genetic variation and host adaptation in an invasive population of *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). *Annals of the Entomological Society of America*, 2010, 103(6): 886-897 (doi: 10.1603/AN09113).
 20. Peng X., Qiao X., Chen M. Responses of holocyclic and anholocyclic *Rhopalosiphum padi* populations to low-temperature and short-photoperiod induction. *Ecol. Evol.*, 2017, 7(4): 1030-1042 (doi: 10.1002/ece3.2720).
 21. Rubio-Meléndez M.E., Barrios-SanMartin J., Pina-Castro F.E., Figueroa C.C., Ramirez C.C. Asexual reproduction of a few genotypes favored the invasion of the cereal aphid *Rhopalosiphum padi* in Chile. *PeerJ*, 2019, 7: e7366 (doi: 10.7717/peerj.7366).
 22. Rispe C., Pierre J.S. Coexistence between cyclical parthenogens, obligate parthenogens, and intermediates in a fluctuating environment. *Journal of Theoretical Biology*, 1998, 195(1): 97-110 (doi: 10.1006/jtbi.1998.0784).
 23. Rispe C., Pierre J.-S., Simon J.-C., Gouyon P.-H. Models of sexual and asexual coexistence in aphids based on constraints. *Journal of Evolutionary Biology*, 1998, 11(6): 685-701 (doi: 10.1046/j.1420-9101.1998.11060685.x).
 24. Gilabert A., Simon J.-C., Dedryver C.-A., Plantegenest M. Do ecological niches differ between sexual and asexual lineages of an aphid species? *Evolutionary Ecology*, 2014, 28: 1095-1104 (doi: 10.1007/s10682-014-9730-y).
 25. Finlay K.J., Luck J.E. Response of the bird cherry-oat aphid (*Rhopalosiphum padi*) to climate change in relation to its pest status, vectoring potential and function in crop-vector-virus pathosystem. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 2011, 144(1): 405-421 (doi: 10.1016/j.agee.2011.08.011).
 26. Hullé M., Cœur d'Acier A., Bankhead-Dronnet S., Harrington R. Aphids in the face of global changes. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6-7): 497-503 (doi: 10.1016/j.crv.2010.03.005).
 27. Jiang Y.N., Qi F., Li W.W., Chen J.L., Tan H.L. The increasing temperature accelerated the population growth of *Rhopalosiphum padi* and *Sitobion avenae* by wheat rhizosphere microorganisms. *Scientia Agricultura Sinica*, 2024, 57(20): 4045-4056 (doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2024.20.010).
 28. Yang M., Yu J., Wang Y., Dewar Y., Huo Y., Wang Z., Zhang H., Shao X., Ma F., Shanguan X., Xu K., Shang S., Ma K. Potential global distributions of an important aphid pest, *Rhopalosiphum padi*: insights from ensemble models with multiple variables. *Journal of Economic Entomology*, 2025? 118(2): 576-588 (doi: 10.1093/jee/toae237).
 29. Kazemi M., Emden H. Partial antibiosis to *Rhopalosiphum padi* (L.) in wheat and some phytochemical correlations. *Annals of Applied Biology*, 1992, 121(1): 1-9 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1992.tb03981.x).
 30. Hesler L.S., Tharp C.I. Antibiosis and antixenosis to *Rhopalosiphum padi* among triticale accessions. *Euphytica*, 2005, 143: 153-160 (doi: 10.1007/s10681-005-3060-7).
 31. Vereshchagina A.B. *Inf. Byull. VPRS MOBB*, 2007, 38: 56-60 (in Russ.).
 32. Kil' V.I. *Zashchita i karantin rasteniy*, 2010, 9: 21-22 (in Russ.).
 33. Fukatsu T., Ishikawa H. Differentiation of aphid clones by arbitrarily primed polymerase chain reaction (AP-PCR) DNA fingerprinting. *Molecular Ecology*, 1994, 3(3):187-92 (doi: 10.1111/j.1365-294x.1994.tb00051.x).
 34. Loxdale H.D., Lushai G. Population genetic issues: the unfolding story using molecular markers. In: *Aphids as crop pests*. H.F. van Emdan, R. Harrington (eds.). CAB International Cornwall

Press, Trowbridge, UK, 2007: 31-67.

35. Kil' V.I., Gronin V.V., Krutenko D.V., Ismailov V.Ya. About DNA polymorphism in different bug species (*Hemiptera*) with RAPD markers. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2008, 1: 70-76 (in Russ.).
36. Loxdale H.D., Edwards O., Tagu D., Vorburger C. Population genetic issues: new insights using conventional molecular markers and genomics tools. In: *Aphids as crop pests*. H.F. van Emdan, R. Harrington (eds.). CAB International Cromwell Press, Trowbridge, UK, 2017: 50-80 (doi: 10.1079/9781780647098.0050).
37. Amin A.H., Draz K.A., Soliman Kh.A., Tabikha R.M. Genetic fingerprints and phylogenetic relationships of eighteen aphid species from Egypt (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae). *Munis Entomology & Zoology*, 2013, 8(1): 387-406 (doi: 10.13140/RG.2.1.3465.3925).
38. Singh R.S., Rhomberg L. Allozyme variation, population structure, and sibling species in *Aphis pomi*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1984, 26(3): 364-373 (doi: 10.1139/g84-057).
39. Loxdale H.D., Brookes C.P. Separation of three rubus-feeding species of aphid - *Sitobion fragariae* (Wlk.), *Macrosiphum funestum* (Macch.) and *Amphorophora rubi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae) — by electrophoresis. *Annals of Applied Biology*, 1989, 115(3): 399-404 (doi: 10.1111/j.1744-7348.1989.tb06559.x).
40. Puterka G.J., Black W.C., Steiner W.M., Burton R.L. Genetic variation and phylogenetic relationships among worldwide collections of the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Mordvilko), inferred from allozyme and RAPD-PCR markers. *Heredity*, 1993, 70(6): 604-618 (doi: 10.1038/hdy.1993.87).
41. Simon J.C., Carrel E., Hebert P., Dedryver C.A., Bonhomme J., Le Gallic J.F. Genetic diversity and mode of reproduction in French populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* L. *Heredity*, 1996, 76: 305-313 (doi: 10.1038/hdy.1996.44).
42. Krause M. K., von Brand E. Scallop genetics and genomics. *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*, 2016, 40: 371-424 (doi: 10.1016/b978-0-444-62710-0.00009-2).
43. Reshma Raj S., Das D.N. Molecular markers and its application in animal breeding. In: *Advances in animal genomics* /S. Mondal, R.L. Singh (eds.). Elsevier, 2020 (doi: 10.1016/B978-0-12-820595-2.00009-6).
44. Loxdale H.D., Brookes C.P. Electrophoretic study of enzymes from cereal aphid populations. V. Spatial and temporal genetic similarity of holocyclic populations of the bird-cherry oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae), in Britain. *Bulletin of Entomological Research*, 1988, 78(2): 241-249 (doi: 10.1017/s0007485300013018).
45. Loxdale H.D., Brookes C.P. Temporal genetic stability within and restricted migration (gene flow) between local populations of the blackberry-grain aphid *Sitobion fragariae* in south-east England. *Journal of Animal Ecology*, 1990, 59(2): 497-514 (doi: 10.2307/4877).
46. Hebert P.D.N., Finston T.L., Footitt R. Patterns of genetic diversity in the sumac gall aphid, *Melaphis rhois*. *Genome*, 1991, 34(5): 757-762 (doi: 10.1139/g91-117).
47. Simon J.-C., Hebert P.D.N. Patterns of genetic variation among Canadian populations of the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* L. (Homoptera: Aphididae). *Heredity*, 1995, 74(4): 346-353 (doi: 10.1038/hdy.1995.52).
48. Hales D.F., Tomiuk J., Wöhrmann K., Sunnucks P. Evolutionary and genetic aspects of aphid biology: a review. *European Journal of Entomology*, 1997, 94: 1-55.
49. Delmotte F., Leterme N., Gauthier J.-P., Rispé C., Simon J.-C. Genetic architecture of sexual and asexual populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* based on allozyme and microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 2002, 11(4): 711-723 (doi: 10.1046/j.1365-294x.2002.01478.x).
50. Martinez D.A., Moya A., Latorre A., Fereres A. Mitochondrial DNA variation in *Rhopalosiphum padi* (Homoptera: Aphididae) populations from four Spanish localities. *Annals of the Entomological Society of America*, 1992, 85(2): 241-246 (doi: 10.1093/aesa/85.2.241).
51. Martinez-Torres D.A., Simon J.C., Fereres A., Moya A. Genetic variation in natural populations of the aphid *Rhopalosiphum padi* as revealed by maternally inherited markers. *Molecular Ecology*, 1996, 5(5): 659-670 (doi: 10.1111/j.1365-294X.1996.tb00361.x).
52. Simon J.-C., Martinez-Torres D., Latorre A., Hebert P.D.N. Molecular characterization of cyclic and obligate parthenogens in the aphid *Rhopalosiphum padi* (L.). *Proc. R. Soc. Lond. B*, 1996, 263: 481-486 (doi: 10.1098/rspb.1996.0072).
53. Martinez-Torres D., Moya A., Hebert P.D.N., Simon J.-C. Geographic distribution and seasonal variation of mitochondrial DNA haplotypes in the aphid *Rhopalosiphum padi* (Hemiptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 1997, 87(2): 161 (doi: 10.1017/s0007485300027309).
54. Avise J.C., Lansman R.A., Shade R.O. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. I. Population structure and evolution in the genus *Peromyscus*. *Genetics*, 1979, 92(1): 279-295 (doi: 10.1093/genetics/92.1.279).
55. Faten R., Mohamed M., Mohamed M. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism of ribosomal internal transcribed spacer region analysis on polyacrylamide gel electrophoresis reveals two haplotypes coexisting in *Myzus persicae*. *Electrophoresis*, 2002, 23(2): 186-188 (doi: 10.1002/1522-2683(200202)23:2<186::AID-ELPS186>3.0.CO;2-Y).

56. Brunner P.C., Fleming C., Frey J.E. A molecular identification key for economically important thrips species (Thysanoptera: Thripidae) using direct sequencing and a PCR-RFLP-based approach. *Agricultural and Forestry Entomology*, 2002, 4(2): 127-136 (doi: 10.1046/j.1461-9563.2002.00132.x).
57. Marshall K.L., Moran C., Chen Y., Herron G.A. Detection of *kdr* pyrethroid resistance in the cotton aphid, *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae), using a PCR-RFLP assay. *Journal of Pesticide Science*, 2012, 37(2): 169-172 (doi: 10.1584/jpestics.D11-017).
58. Delmotte F., Leterme N., Bonhomme J., Rispe C., Simon J.-C. Multiple routes to asexuality in an aphid species. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 2001, 268(1483): 1-9 (doi: 10.1098/rspb.2001.1778).
59. Wilson A.C.C., Sunnucks P., Hales D.F. Microevolution, low clonal diversity and genetic affinities of parthenogenetic *Sitobion aphids* in New Zealand. *Molecular Ecology*, 1999, 8(10): 1655-1666 (doi: 10.1046/j.1365-294x.1999.00751.x).
60. Simon J.-C., Baumann S., Sunnucks P., Hebert P.D.N., Pierre J.-S., Le Gallic J.-F., Dedryver C.-A. Reproductive mode and population genetic structure of the cereal aphid *Sitobion avenae* studied using phenotypic and microsatellite markers. *Molecular Ecology*, 1999, 8(4): 531-545 (doi: 10.1046/j.1365-294x.1999.00583.x).
61. Wilson A.C.C., Massonnet B., Simon J.-C., Prunier-Leterme N., Dolatti L., Llewellyn K.S., Figueroa C.C., Ramirez C.C., Blackman R.L., Estoup A., Sunnucks P. Cross-species amplification of microsatellite loci in aphids: assessment and application. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(1): 104-109 (doi: 10.1046/j.1471-8286.2004.00584.x).
62. Thomas S., Boissot N., Vanlerberghe-Masutti F. What do spring migrants reveal about sex and host selection in the melon aphid? *BMC Evolutionary Biology*, 2012, 12(1): 47 (doi: 10.1186/1471-2148-12-47).
63. Margaritopoulos J.T., Malarky G., Tsitsipis J.A., Blackman R.L. Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 2007, 91(4): 687-702 (doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00828.x).
64. Zhang B., Edwards O.R., Kang L., Fuller S. Russian wheat aphids (*Diuraphis noxia*) in China: native range expansion or recent introduction? *Molecular Ecology*, 2012, 21(9): 2130-2144 (doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05517.x).
65. Simon J.-C., Leterme N., Delmotte F., Martin O., Estoup A. Isolation and characterization of microsatellite loci in the aphid species, *Rhopalosiphum padi*. *Molecular Ecology Notes*, 2001, 1(1-2): 4-5 (doi: 10.1046/j.1471-8278.2000.00002.x).
66. Gilabert A., Simon J.C., Mieuze L., Halkett F., Stoeckel S., Plantegenest M., Dedryver C.A. Climate and agricultural context shape reproductive mode variation in an aphid crop pest. *Molecular Ecology*, 2009, 18(14): 3050-3061 (doi: 10.1111/j.1365-294X.2009.04250.x).
67. Gilabert A., Dedryver C.-A., Stoeckel S., Plantegenest M., Simon J.-C. Longitudinal clines in the frequency distribution of "super-clones" in an aphid crop pest. *Bulletin of Entomological Research*, 2015, 105(6): 694-703 (doi: 10.1017/s0007485315000619).
68. Duan X., Peng X., Qiao X., Chen M. Life cycle and population genetics of bird cherry-oat aphids *Rhopalosiphum padi* in China: an important pest on wheat crops. *Journal of Pest Science*, 2016, 90(1): 103-116 (doi: 10.1007/s10340-016-0752-9).
69. Aleosfoor M., Izadpanah K., Mossadegh M.S., Masoumi M., Sadeghi M.S., Mardi M., Afsharifar A.R., Hayati J. Genetic diversity of *Rhopalosiphum padi* L. (Hom.: Aphididae) using microsatellite markers. *Munis Entomology & Zoology*, 2012, 7(2): 1073-1078.
70. Duan X., Wang K., Su S., Tian R., Li Y., Chen M. De novo transcriptome analysis and microsatellite marker development for population genetic study of a serious insect pest, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae). *PLoS ONE*, 2017, 12(2): e0172513 (doi: 10.1371/journal.pone.0172513).
71. Martinez-Torres D., Carrio R., Latorre A., Simon J.C., Hermoso A., Moya A. Assessing the nucleotide diversity of three aphid species by RAPD. *Journal of Evolutionary Biology*, 1997, 10(4): 459-477 (doi: 10.1046/j.1420-9101.1997.10040459.x).
72. Vanlerberghe-Masutti F., Chavigny P. Host-based genetic differentiation in the aphid *Aphis gossypii* Glover, evidenced from RAPD fingerprints. *Molecular Ecology*, 2002, 7(7): 905-914 (doi: 10.1046/j.1365-294x.1998.00421.x).
73. Black W.C., DuTeau N.M., Puterka G.J., Nechols J.R., Pettorini J.M. Use of the random amplified polymorphic DNA polymerase chainreaction (RAPD-PCR) to detect DNA polymorphisms in aphids (Homoptera: Aphididae). *Bulletin of Entomological Research*, 1992, 82(2): 151-159 (doi: 10.1017/S0007485300051671).
74. De Barro P.J., Sherratt T.N., Brookes C.P., David O., Maclean N. Spatial and temporal variation in British field populations of the grain aphid *Sitobion avenae* (F.) (Hemiptera: Aphididae) studied using RAPD-PCR. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B*, 1995, 262: 321-327 (doi: 10.1098/rspb.1995.0212).
75. Tabikha R.M., Adss I.A. Genetic and morphological variations among geographical populations of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hemiptera: Aphididae) in Egypt, using RAPD and ISSR markers.

76. Bulman S.R., Stufkens M.A.W., Eastop V.F., Teulon D.A.J. *Rhopalosiphum aphids* in New Zealand. II. DNA sequences reveal two incompletely described species. *New Zealand Journal of Zoology*, 2005, 32(1): 37-45 (doi: 10.1080/03014223.2005.9518396).
77. Shufran K.A., Burd J.D., Anstead J.A., Lushai G. Mitochondrial DNA sequence divergence among greenbug (Homoptera: Aphididae) biotypes: evidence for host-adapted races. *Insect Molecular Biology*, 2000, 9(2): 179-184 (doi: 10.1046/j.1365-2583.2000.00177.x).
78. Turčinavičienė J., Rakauskas R., Pedersen B.V. Phylogenetic relationships in the «grossulariae» species group of the genus *Aphis* (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aphididae): Molecular evidence. *European Journal of Entomology*, 2006, 103(3): 597-604 (doi: 10.14411/eje.2006.080).
79. Valenzuela I., Hoffmann A.A., Malipatil M.B., Ridland P.M., Weeks A.R. Identification of aphid species (Hemiptera: Aphididae: Aphidinae) using a rapid polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism method based on the cytochrome oxidase subunit I gene. *Australian Journal of Entomology*, 2007, 46(4): 305-312 (doi: 10.1111/j.1440-6055.2007.00615.x).
80. Lee W., Kim H., Lim J., Choi H.-R., Kim Y., Kim Y.-S., Ji J.-Y., Footitt R.G., Lee S. Barcoding aphids (Hemiptera: Aphididae) of the Korean Peninsula: updating the global data set. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11(1): 32-37 (doi: 10.1111/j.1755-0998.2010.02877.x).
81. Kinyanjui G., Khamis F.M., Mohamed S., Ombura L.O., Warigia M., Ekesi S. Identification of aphid (Hemiptera: Aphididae) species of economic importance in Kenya using DNA barcodes and PCR-RFLP-based approach. *Bulletin of Entomological Research*, 2015, 106(1): 63-72 (doi: 10.1017/s0007485315000796).
82. Rakauskas R., Havelka J., Bernotienė R. Mitochondrial (COI) and nuclear (EF-1 α) DNA variability of *Rhopalosiphum padi* and *Rhopalosiphum nymphaeae* (Hemiptera: Aphididae) in Lithuania. *Biologia*, 2014, 69(12): 1730-1741 (doi: 10.2478/s11756-014-0475-4).
83. Sun W., Su Q., Yang W., Zhou J., Gao Y. Genetic diversity and gene flow observed in two cereal aphid (Hemiptera: Aphididae) species and populations in the chinese corn belt region. *Journal of Entomological Science*, 2022, 57(3): 363-379 (doi: 10.18474/JES21-64).
84. Guo J., Li J., Massart S., He K., Francis F., Wang, Z. Analysis of the genetic diversity of two rhopalosiphum species from China and Europe based on nuclear and mitochondrial genes. *Insects*, 2023, 14(1): 57 (doi: 10.3390/insects14010057).
85. Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 1994, 3(5): 294-299.
86. Simon C., Frati F., Beckenbach A., Crespi B., Liu H., Flook P. Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Annals of the Entomological Society of America*, 1994, 87(6): 651-701 (doi: 10.1093/aesa/87.6.651).
87. Footitt R.G., Maw H.E.L., Von Dohlen C.D., Hebert P.D.N. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8(6): 1189-1201 (doi: 10.1111/j.1755-0998.2008.02297.x).
88. Harry M., Solignac M., Lachaise D. Molecular evidence for parallel evolution of adaptive syndromes in fig-breeding Lisocephala (Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1998, 9(3): 542-551 (doi: 10.1006/mpev.1998.0508).
89. Alpat'eva N.V., Anisimova I.N., Radchenko E.E. *Entomologicheskoe obozrenie*, 2022, 101(3): 503-514 (in Russ.).
90. Li Q., Yao J., Zeng L., Lin X., Huang X. Molecular and morphological evidence for the identity of two nominal species of *Astegopteryx* (Hemiptera, Aphididae, Hormaphidinae). *ZooKeys*, 2019, 833: 59-74 (doi: 10.3897/zookeys.833.30592).
91. Cheng Z., Huang X. Two new species of *Aphis* (*Toxoptera*) Koch (Hemiptera, Aphididae) from China. *ZooKeys*, 2023, 1172: 31-46 (doi: 10.3897/zookeys.1172.106518).
92. Wang K., Liu G.M., Song C.M., Su S., Chen M.H. Mitochondrial genetic diversity in the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* (L.) in China. *J. Agr. Sci. Tech.*, 2018, 20: 95-107.
93. Radchenko E.E., Anisimova I.N., Alpat'eva N.V.. *Genetika*, 2024, 60(8): 66-73 (doi: 10.31857/S0016675824080068) (in Russ.).
94. Brown W.M. The mitochondrial genome of animals. In: *Molecular evolutionary genetics*. R.J. MacIntyre (ed.). Plenum Press, New York, 1985: 95-130.
95. Wang Y., Xu S. A high-quality genome assembly of the waterlily aphid *Rhopalosiphum nymphaeae*. *Sci. Data*, 2024, 11: 194 (doi: 10.1038/s41597-024-03043-3).
96. Qiu S., Wu N., Sun X., Xue Y., Xia J. Chromosome-level genome assembly of soybean aphid. *Sci. Data*, 2025, 12: 386 (doi: 10.1038/s41597-025-04711-8).
97. Tagu D., Dugravot S., Outreman Y., Rispe C., Simon J.-C., Colella S. The anatomy of an aphid genome: from sequence to biology. *Comptes Rendus Biologies*, 2010, 333(6-7): 464-473 (doi: 10.1016/j.crv.2010.03.00).
98. Byrne S., Schughart M., Carolan J.C., Gaffney M., Thorpe P., Malloch G., Wilkinson T., McNamara L. Genome sequence of the English grain aphid, *Sitobion avenae* and its endosymbiont

- Buchnera aphidicola*. *G3 Gene, Genomes, Genetics*, 2022, 12(3): jkab418 (doi: 10.1093/g3journal/jkab418).
99. Morales-Hojas R., Gonzalez-Uriarte A., Alvira Iraizoz F., Jenkins T., Alderson L., Kruger T., Hall M.J., Greenslade A., Shortall C.R., Bell J.R. Population genetic structure and predominance of cyclical parthenogenesis in the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* in England. *Evol. Applyaremko.*, 2020, 13(5): 1009-1025 (doi: 10.1111/eva.12917).
 100. Thorpe P., Escudero-Martinez C.M., Cock P.J.A., Eves-van den Akker S., Bos J.I.B. Shared transcriptional control and disparate gain and loss of aphid parasitism genes. *Genome Biology and Evolution*, 2018, 10(10): 2716-2733 (doi: 10.1093/gbe/evy183).