

Красноярск 2023

РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация по теме «Филогеография тополевой моли-пестрянки *Phyllonorycter populifoliella* (Lepidoptera: Gracillariidae) – массового вредителя тополей в Сибири» содержит 60 страниц текстового документа, 12 иллюстраций, 2 таблицы, 1 приложение и 94 использованных источников.

Ключевые слова: ДНК-БАРКОДИНГ, ГЕН COI мтДНК, МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ БИБЛИОТЕКА, ВНУТРИВИДОВАЯ ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ, ГАПЛОТИПЫ, ВЕКОВЫЕ ГЕРБАРИИ, АРЕАЛ, СИБИРЬ, ПАЛЕАРКТИКА, НЕАРКТИКА.

Объектом исследования явились азиатские (сибирские) и европейские популяции *Ph. populifoliella*, а также образцы тополевых молей-пестрянок из исторических гербарных образцов, собранных в XIX–XX веках.

Цель работы: филогеографический анализ популяций тополевой моли-пестрянки *Ph. populifoliella* в Сибири и за ее пределами и поиск свидетельств расширения границ ареала вида.

В результате работы освоены: метод секвенирования по Сэнгеру; горизонтальный гель-электрофорез в агарозном геле; идентификация видов насекомых и поиск ближайших соседей на платформе генетических баз данных BOLD (Barcode of Life Data System, <https://boldsystems.org/>) и GenBank (NCBI); разработка генетических библиотек на платформе BOLD и депонирование сиквенсов в BOLD и GenBank; выравнивание нуклеотидных последовательностей в программе BioEdit, CodonCode; филогенетический анализ и филогеографический анализы с использованием биоинформатических инструментов на генетической платформе BOLD; программы для анализа молекулярно-генетических данных MEGA, FigTree, PopArt, DnaSP, Arlequin.

В результате исследований разработана обновляемая молекулярно-генетическая библиотека тополевой моли-пестрянки на базе генетической платформы BOLD (Barcode Of Life Data system) и произведено ее наполнение

сиквенсами гена COI мтДНК, оригинальными электроферограммами, биогеографическими данными и фотографиями изученных образцов. Оценен диапазон внутривидовой генетической variability вида на основе анализа 101 образцов из современного ареала вида в Палеарктике с акцентом на Сибирь. Исследована филогеография вида с установлением 29 гаплотипов по гену COI мтДНК и оценена их встречаемость в Азии (преимущественно в Сибири) и странах Восточной и Западной Европы. Выявлен уникальный гаплотип тополевой моли-пестрянки в недавно задокументированной популяции вида на севере Индии и рассмотрен вопрос о возможном инвазионном происхождении *Ph. populifoliella* в Индии. С применением секвенирования нового поколения (платформа Sequel, PacBio) по останкам гусениц и куколок, обнаруженным в минах на листьях 173-летних гербарных образцов тополей из Европы, США и Канады, идентифицировано четыре вида тополевых молей-пестрянок (три палеарктических и один неарктический) и показано, что заносов палеарктического вида *Ph. populifoliella* в Северную Америку по исследованным историческим материалам 1850–1974 гг. не происходило.

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	2
СОДЕРЖАНИЕ	4
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	8
1.1. Тополевая моль-пестрянка: хозяйственная значимость и современный ареал	8
1.2. Применение ДНК-баркодинга для идентификации видов и изучения их филогенетики и филогеографии	10
1.3. Молекулярно-генетическая каталогизация видов и молекулярно-генетические библиотеки	11
ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ, РЕГИОН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	14
2.1. Объект исследования	14
2.2. Регион исследования	16
2.3. Сборы образцов	16
2.4. Методы молекулярно-генетических исследований	18
2.4.1 ДНК-баркодинг.....	18
2.4.2 Секвенирование нового поколения	20
2.4.3 2.4.3 ..Идентификация видов молей по их останкам с использованием ДНК-баркодинга.....	21
2.4.4 Биоинформатический анализ данных	22
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	24
3.1 Разработка ДНК-библиотеки тополовой моли-пестрянки на платформе генетической базы BOLD.....	24
3.2. Внутривидовая изменчивость популяций тополовой моли-пестрянки по гену COI мтДНК.....	Ошибка! Закладка не определена.

3.3. Филогеография тополевой моли-пестрянки в Палеарктике **Ошибка!**

Закладка не определена.

3.4. Молекулярно-генетический анализ особей тополевых молей из исторических гербарных образцов: поиск свидетельств распространения *Ph. populifoliella* за пределы Палеарктики в прошлом **Ошибка! Закладка не определена.**

ВЫВОДЫ 26

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 27

ПРИЛОЖЕНИЕ 38

ВВЕДЕНИЕ

Тополевая моль-пестрянка *Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke) (Lepidoptera, Gracillariidae) – массовый вредитель тополей в России, в частности в Сибири, является объектом различных научных работ. Исследования филогеографии данного вида в его нативном ареале – Палеарктике, значительная часть которой находится в азиатской части России, в частности в Сибири, до настоящего времени не проводились. Открытыми оставались вопросы о внутривидовой генетической изменчивости вида и генетической variability его популяций. Неясно является ли данный вид аборигенным для всех частей Палеарктики (в том числе регионов Сибири) или же он расселился по территории России в связи с интродукцией североамериканского вида тополя *Populus balsamifera*, который оказался высоко восприимчивым и массово повреждаемым тополевой молью-пестрянкой *Ph. populifoliella*. Неисследованным также является вопрос о возможных инвазиях вида в другой биогеографический регион – Неарктику.

Цель работы: филогеографический анализ популяций тополевой моли-пестрянки *Ph. populifoliella* в Сибири и за ее пределами и поиск свидетельств расширения границ ареала вида.

Задачи:

1. Разработать молекулярно-генетическую библиотеку *Ph. populifoliella* на платформе электронной генетической базы данных BOLD (Barcode of Life Data System).
2. Исследовать генетическую variability вида в Азии и Европе по гену COI митохондриальной ДНК.
3. Оценить встречаемость различных гаплотипов *Ph. populifoliella* в Палеарктике;
4. С применением секвенирования нового поколения проанализировать гербарные образцы более вековой давности для

поиска свидетельств распространения вида за пределы Палеарктики.

Выражаю благодарность моему научному руководителю к.б.н., профессору К.В. Крутовскому за поддержку на разных этапах работы. Большое спасибо также сотрудникам лаборатории лесной зоологии Национального института сельскохозяйственных исследований Франции (INRA, в настоящее время INRAE), Орлеан, за помощь при прохождении стажировки по молекулярной генетике и команде Канадского центра ДНК-баркодинга (Canadian Center for DNA-barcoding) при Гуэлфском университете (Канада), в особенности к.б.н. Е.В. Захарову, за содействие в секвенировании останков насекомых, извлеченных из мин на листьях вековых гербарных коллекций. Исследования частично поддержаны грантом РФФ (№22-16-00075).

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Тополевая моль-пестрянка: хозяйственная значимость и современный ареал

Тополевая моль-пестрянка *Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke) (Lepidoptera, Gracillariidae) — палеарктический вид, широко распространенный в Восточной и Западной Европе, России — от западных до восточных границ страны, Средней Азии [2, 3, 42]. Этот вид является одним из самых распространённых и массовых вредителей тополей в урбоэкосистемах России [21, 22]. Его повреждения постоянно обнаруживают на листьях тополей во многих российских городах [21], и в особенности в Сибири [29, 32].

На территории России первая вспышка вида была задокументирована в Приуралье [11]. Проблема массовых размножений вредителя была зафиксирована в ряде городов европейской части страны, в особенности в Москве (начиная с 1929 г.) и Санкт-Петербурге [4, 6, 18, 20, 22, 28].

В Сибири это насекомое стало известно, как вредитель декоративных насаждений с начала 1940-х годов [32]. В то время *Ph. populifollella* являлась одним из опаснейших листовых вредителей тополей в городских насаждениях Иркутска [32]. В последние десятилетия *Ph. populifoleilla* сильно повреждает тополя в городах и поселках Сибири. Здесь вид способен формировать хронические очаги массового размножения [29]. Очевидно, эта проблема связана с широким распространением крайне восприимчивого североамериканского хозяина — тополя бальзамического (*Populus balsamifera*) и его гибридов в регионах России, и в частности, в Сибири.

Тополевая моль-пестрянка развивается преимущественно на видах тополей из таксономических секций — черных и бальзамических [8, 29, 47]. Тополь бальзамический был завезен из Северной Америки сначала в Европу. В бывшем СССР культивирование растения началось около полутора веков назад [24, 31]. Тополь бальзамический легко скрещивается с тополем черным *P. nigra*

[16, 24, 25]. Тополь бальзамический и его гибриды получили широкое распространение в бывшем СССР в конце 1940-х – 1960-х гг., когда города и поселки интенсивно развивались и восстанавливались после разрушений, вызванных Великой Отечественной Войной 1941–1945 гг. Восстановление городов требовало быстрых и действенных проектов по озеленению новых агломераций [19]. В результате в настоящее время тополь бальзамический и его гибриды получили распространение на обширной территории России от Полярного круга до южных пределов редколесья и леса [7, 12, 24, 25, 26].

В России, и в частности в Сибири, *P. balsamifera* и его гибриды оказались очень восприимчивыми к аборигенной моли-пестрянке *Ph. populifoliella* [29], которая, по всей видимости, перешла на бальзамический тополь и его гибриды с местного тополя черного *P. nigra*, имеющего широкое распространение в стране [12].

Насекомое активно с мая по начало сентября [18, 20, 22]. Гусеницы *Ph. populifoliella* питаются и живут внутри паренхимы листа, создавая округлые полости, т. е. мины. Размер мин увеличивается по мере роста гусениц [29]. Повреждения становятся заметным в конце июня [32]. При массовом нападении вредителя листья могут быть полностью покрыты минами, что вызывает их сильную деформацию и усыхание и приводит к преждевременному опадению [30]. К началу августа деревья теряют большую часть своей зеленой биомассы, что существенно влияет на эстетику тополей в урбанизированных районах [32].

В отношении современного ареала вида в Палеарктике остается вопрос является ли этот вид для всех частей этого биогеографического региона местным (аборигенным). В 2017 г. вид был впервые выявлен на севере Индии (эта часть страны относится к Палеарктике), в отношении чего было выдвинуто предположение, что здесь *Ph. populifoliella* может являться инвазионным [53]. Также остается открытым вопрос о возможности ранних заносов вида в Северную Америку (в США и Канаду), где бальзамический тополь *P. balsamifera* является аборигенным.

1.2. Применение ДНК-баркодинга для идентификации видов и изучения их филогенетики и филогеографии

Изучение видового разнообразия насекомых на больших территориях, их идентификация, изучение границ внутривидовой вариабельности и родства видов, а также анализ их текущих и ранних ареалов сложно представить без использования современных технологий, например, ДНК-баркодинга (ДНК-штрихкодирования) – метода молекулярно-генетической идентификации таксонов [50, 73, 85].

В основе этого подхода лежит расшифровка универсального ДНК-маркёра, который позволяет уточнять таксономическую принадлежность организмов. Для членистоногих, в том числе представителей класса Insecta таким ДНК-маркёром служит ген COI мтДНК – 5'-фрагмент первой субъединицы митохондриального гена, кодирующего белок цитохром-С-оксидазу COI, имеющего длину 658 п.н. (т.е. пар нуклеотидов) [38].

ДНК-баркодинг – передовой метод, который все чаще используется для ревизии региональных комплексов насекомых [40, 67, 85]. Он также позволяет открывать новые для науки таксоны [44, 67, 88], обнаруживать чужеродные (в том числе инвазионные) виды насекомых [37].

Активно развивающееся направление – интегративная таксономия, которая базируется на комплексе методов видовой диагностики, играет большую роль в науке и практике [59, 94]. В Сибири, где фауна молей-пестрянок изучена фрагментарно, новые для науки виды, в частности, таких мелких насекомых как моли-пестрянки, чаще всего выявляют именно с использованием ДНК-баркодинга [33, 67, 88].

Так, идентификация тополевой моли-пестрянки *Ph. populifoliella* по гусеницам и куколкам, обнаруживаемым в минах, проблематична. В России, в частности, в Сибири, на тополях черных и бальзамических селится ряд других родственных видов тополевых молей, например, *Phyllonorycter pastorella* (Zeller) [2, 3]. По гусеницам эти виды можно спутать, а повреждения,

оставленные ими на листья тополей и вовсе неразличимы. Поэтому при работе с неполовозрелыми особями всегда встает вопрос достоверной видовой идентификации. Единственным способом детерминации видов в этом случае является ДНК-баркодинг.

ДНК-баркодинг также позволяет исследовать родство видов и их филогеографию, утонять границы прошлых и современных ареалов. Благодаря в первую очередь анализу ДНК-баркодингового фрагмента гена COI мтДНК, были оценены внутри- и межвидовые различия европейских видов молей-пестрянок [50]. Молекулярные маркёры все больше используются для анализа филогеографии насекомых – вредителей древесных растений, в том числе минирующих молей-пестрянок из семейства Gracillariidae [76, 90].

Известно, что организмы с высоким внутривидовым генетическим разнообразием эволюционно более гибкие – способные быстро устанавливать новые трофические связи и расширять ареалы [80]. В последнем случае нередко человеческий фактор является вектором инвазий видов [79] – вселения чужеродных (инвазионных, адвентивных) видов в новые для них регионы и страны [48]. Успех инвазий видов чаще всего объясняют эффектом «бутылочного горлышка» [78] при котором за распространение чужеродных видов на новые территории отвечают единичные, наиболее жизнеспособные и адаптивные, гаплотипы [56]. Этот эффект связан с тем, что при определенных условиях такие гаплотипы могут получить стимул к распространению, тогда как прочие многочисленные гаплотипы, не обладающие такими свойствами, остаются “прикованными” к первичному ареалу вида [57].

1.3. Молекулярно-генетическая каталогизация видов и молекулярно-генетические библиотеки

Идея молекулярно-генетической каталогизации всего живого на планете с использованием ДНК-баркодинга была высказана канадским исследователем П. Хебертом и его коллегами [38]. Так ДНК-баркодинг, который показал свою

эффективность и высокую точность в определении таксонов многих организмов, стал основополагающим в реализации крупного международного проекта «Штрихкодирование всего живого» (Barcode of life) [41], вскорости получившего новое название – «Международное штрихкодирование всего живого» (International Barcode of life) [64].

Такая глобальная инициатива по баркодированию всех организмов стартовала в 2004 г. К ее развитию подключились ученые из разных государств, заинтересованные в разработке молекулярно-генетических библиотек (или ДНК-библиотек) всех эукариотических организмов на основе молекулярно-генетической системы BOLD (Barcode of Life Data System) [84].

В этом значимом проекте принимают участие свыше 200 научных и образовательных институтов и университетов из нескольких десятков стран. Россия начала вносить вклад в развитие этого проекта, начиная с 2005 г. В 2009 г. к данному проекту присоединилась наша исследовательская группа (ИЛ СО РАН и СФУ) с задачей каталогизировать представителей молей-пестрянок *Gracillariidae* России, а также прочих групп насекомых, имеющих хозяйственное значение (преимущественно из отряда *Lepidoptera*), с применением ДНК-баркодирования.

Целью молекулярно-генетических библиотек является не только депонирование ДНК-баркодов организмов, но и аккуратное их курирование, чтобы библиотеки или некоторые образцы, которые в них хранятся, могли использоваться в качестве референсных (эталонных) для точной идентификации таксонов. Каталогизации и систематизации видов организмов, ДНК-библиотеки являются важнейшим ресурсом для выявления опасных чужеродных вредителей, включая карантинных представителей, на ранних этапах внедрения в экосистемы.

Регулярное обновление библиотек важно с точки зрения возможностей использования накопленных пулов молекулярно-генетических данных для филогенетических и филогеографических исследований. В последнем случае исследуются современные и прошлые ареалы видов, инвазионные процессы,

устанавливаются регионы-доноры, откуда могла произойти инвазия, а также уточняются маршруты распространения насекомых [55, 76, 90]. Такие данные особо ценны, когда речь идет об опасных насекомых-вредителях лесного и сельского хозяйства. В связи с этим разработка, аккуратное курирование и регулярное пополнение ДНК-библиотек новыми молекулярно-генетическими данными имеет бесспорную значимость для развития научных знаний и их практического применения.

ГЛАВА 2. ОБЪЕКТ, РЕГИОН И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Объект исследования

Моль-пестрянка *Ph. populifoliella* – консумент тополей. Биология данного вредителя изучена относительно детально (рисунок 1). Бабочки мелких размеров, длина переднего крыла составляет 2,5-3 мм; на передних крыльях имеется специфический рисунок, образованный светлыми и темными чешуйками (рисунок 1К, М). Гениталии самцов симметричны – левая и правая вальвы одинаково широкие и длинные (рисунок 1Л). Подробное описание биологии вида дано в работах предшественников [18, 20, 32], морфологические характеристики вида приведены в определительных ключах [14, 15].

В Сибири моль развивается в 1–2 поколениях [29]. Бабочки первой генерации активны, начиная с последней декады апреля, и встречаются до середины мая. Диапаузирующая стадия – имаго. Бабочки зимуют в трещинах коры тополей, различных укромных местах (щелях и трещинах в стенах домов, а также в могут проникать для зимовки в квартиры). Гусеницы выедают в листьях тополей полости – так называемые мины (рисунок 1А–Е). Мины, как правило, нижнесторонние: на ранней стадии они представляют собой эпидермальные туннели, позднее приобретают овальную (пятновидную) форму (рисунок 1Д, Е). Гусеницы младших и старших возрастов имеют различия во внешней морфологии (рисунок 1Ж). Для окукливания гусеница плетет тонкий кокон внутри мины (рисунок 1З, И). Тополевая моль известна как вспышечный вид; в населенных пунктах, в особенности в крупных городах (где тополя используются в озеленении интенсивно), считается вредителем [22, 29].

Вид отмечен во многих частях Палеарктики, особенно в регионах, где имеют распространения тополя черные, а также имеются насаждения бальзамических тополей и их гибридов [14, 15, 42, 47]. Среди молей-пестрянок этот вид является наиболее ярким примером вредоносных насекомых на тополях в городской среде. Этот вид нередко вызывает большой резонанс среди горожан при подъемах численности и массовой встречаемости [13].

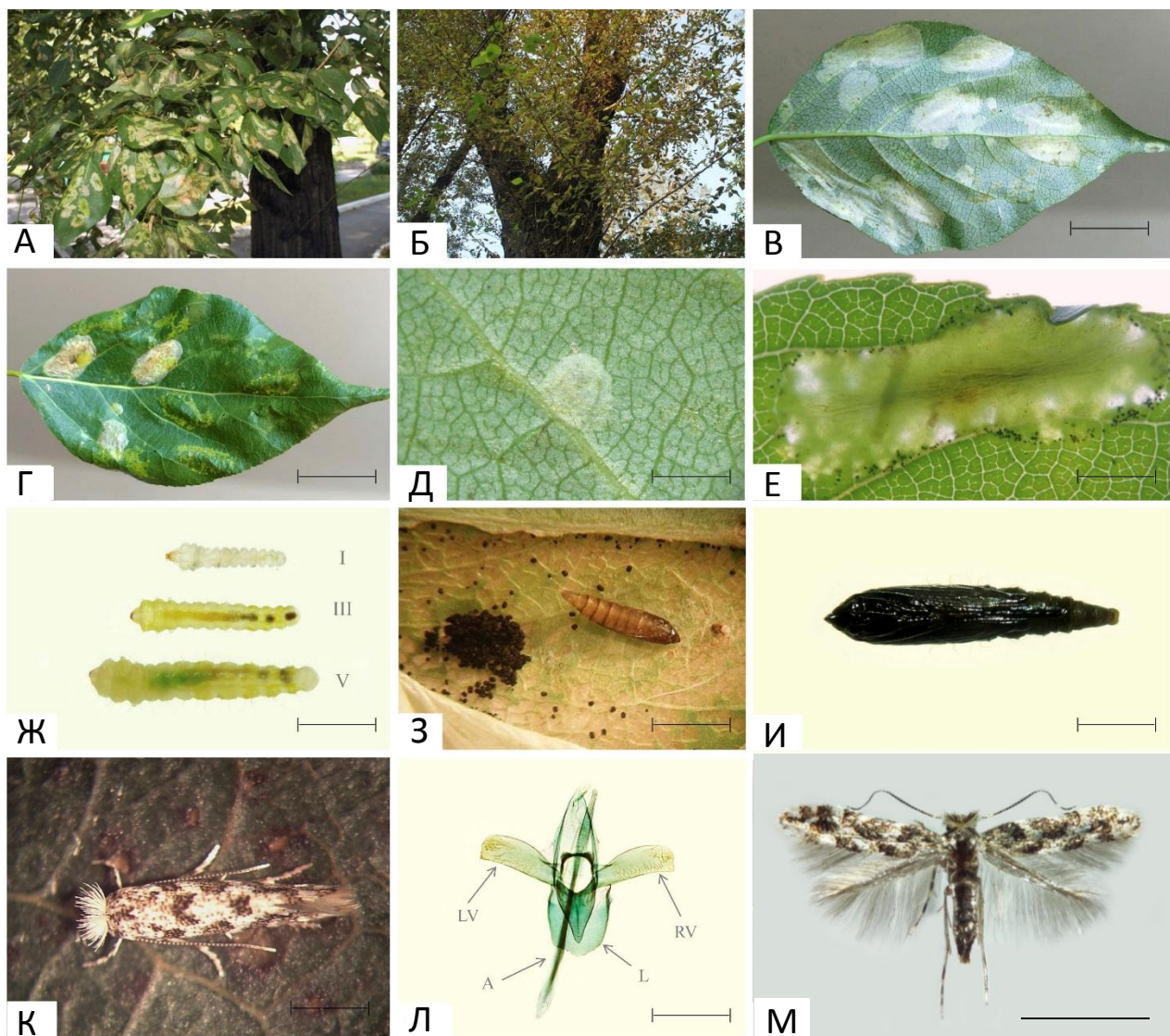


Рисунок 1 – Биология *Phyllonorycter populifoliella* в Сибири. А – сильно пораженные листья со старыми минами; Б – усыхание поврежденных листьев; В – лист с минами (вид снизу); Г – деформация листа из-за минирования (вид сверху); Д – молодая плоская пятновидная мина; Е – овальная объемная пятновидная мина; Ж – гусеницы разных возрастов (I, III, V); З – молодая куколка во вскрытой мине и экскременты; И – куколка с потемневшими покровами; К – бабочка в состоянии покоя на листе; Л – гениталии самца (LV, RV – левая и правая вальвы, А – эдеагус, L – VIII стернит); М – имаго в расправленном виде из сухой коллекции автора. Фото: Н.И. Кириченко

2.2 Регион исследования

Основным регионом исследования в работе являлась Сибирь. Это самый большой регион в России, имеющий протяжение от Урала до Якутия и Забайкальского края. На юге регион граничит с Казахстаном, Монголией и Китаем, на севере побережье омывается Северным Ледовитым океаном [1].

Большая часть Сибири размещается в двух природных поясах – умеренном и субарктическом [5]. В регионе доминирует континентальный климат со значительной флуктуацией температур на протяжении года; зимний период длительный (5–7 месяцев), летний сравнительно короткий (2–3 месяца) и жаркий [27]. В январе средняя температура изменяется от $-16\text{ }^{\circ}\text{C}$ на юге до $-48\text{ }^{\circ}\text{C}$ на севере, в июле – от $+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ на севере до $+23\text{ }^{\circ}\text{C}$ на юге. Летом максимальные дневные температуры смогут достигать до $+35\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выше. Количество годовых осадков изменяется в следующих пределах: на севере от 350 мм на западе до 600 мм [17]. Вместе с тем в Горном Алтае в год может выпадать до 2000 и выше мм осадков [27].

2.3 Сборы образцов

Полевыми сборами была охвачена Сибирь и частично Дальний Восток: листья с минами были собраны лично автором в июле-августе в ранние годы в центральных городах 11 административных регионов (от Тюменской области до Хабаровского края), преимущественно вдоль Транссибирской магистрали. Во всех точках этот период соответствовал окончанию первого поколения тополевой моли, поэтому на листьях тополя легко можно было обнаружить крупные пятновидные мины. Сбор листьев с повреждениями проводился в городских насаждениях, парках, скверах.

Для сравнительного анализа географических популяций по гену COI мтДНК были проанализированы образцы из европейской части России (Москва) и заимствованы, по согласованию у коллег, образцы из Европы

(Австрия, Болгария, Белоруссия, Германия, Литва, Польша, Финляндия, Франция). В совокупности материал для молекулярно-генетических исследований происходил из сборов в 33 точек 10 стран (рисунок 2).

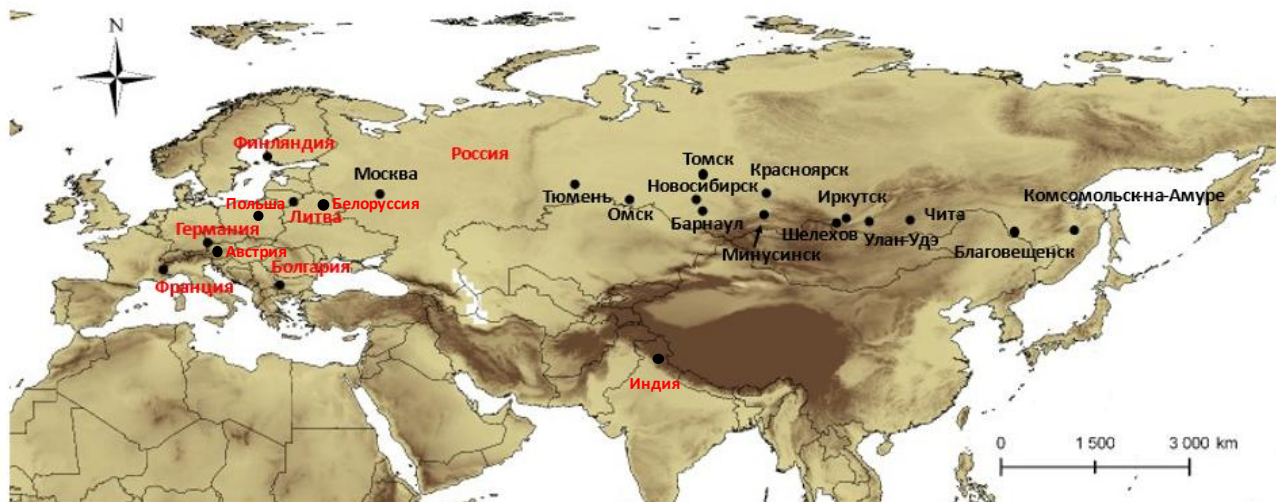


Рисунок 2 – Точки сборов *Ph. populifoliella* в Азии и Европе

Из мин на листьях тополей (*P. balsamifera*, *P. nigra* и гибридах) собирали живых гусениц *Ph. populifoliella*. Для обнаружения мин на листьях следовали руководствам, описанным в работе Херинга [62] и прочих методических публикациях [9, 72]. Сборы осуществлялись лично, а также с привлечением помощи волонтеров в отдаленных географических регионах с последующей передачей образцов (присылкой почтой) автору.

Для сбора насекомых из мин последние надрезали по краю, используя энтомологический пинцет и аккуратно вынимали насекомых. Для получения выборок моли-пестрянки насекомых собирали из мин на разных листьях с разных деревьев (3-5 деревьев в пункте сбора). Живых гусениц и куколок фиксировали в 95%-ом спиртовом растворе и помещали для хранения в микропробирки 1,5-2 мл (Axygen, USA) по одному или выборками из пункта сбора. Высокая концентрация спирта обуславливает хорошую сохранность ДНК в образцах за счет быстрого обезвоживания организма и денатурации белков [46]. Пробирки с образцами снабжали этикетками с базовой

информацией (вид растения, с которого были собраны листья с минами, локалитет и дата сбора, имя сборщика, полевой номер образца). Пробирки помещали в штативы по регионам сборов и хранили в холодильной камере (при $t - 10\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Для насекомых, видовой принадлежность которых нуждалась в проверке по морфологическим признакам, гусениц и куколок доразвивали до имаго в чашках Петри в лабораторных условиях согласно общепринятым методикам [81, 82]. Вышедших из куколок молей для фиксации выдерживали в парах этилацетата, далее помещали их с определительной этикеткой на энтомологические булавки и монтировали на хранение в энтомологические коробки. Альтернативно и при многочисленности отрождения имаго последних помещали для хранения в пробирки в 95%-ый раствор спирта. Все сборы хранятся в коллекции Н.И. Кириченко (Красноярск).

Для сравнительного анализа в работу были вовлечены полевые материалы (образцы насекомого) из стран Восточной и Западной Европы, собранные в современное время автором, переданные ему другими коллегами или заимствованные сиквенсы насекомого, опубликованные в свободном доступе.

Исторические материалы (гербарные образцы листьев тополей с характерными повреждениями тополевых молей-пестрянок) более чем вековой давности были собраны в странах Европы и Северной Америке (Канаде и США). Гербарные материалы из этих регионов и стран были предоставлены автору кураторами национальных коллекций музеев естественной истории (Париж, Австрия) по запросу для научных исследований.

2.4 Методы молекулярно-генетических исследований

2.4.1 ДНК-баркодинг

Собранных гусениц, куколок, реже имаго (по 1–13 особей из каждого пункта сбора) помещали в специализированную плашку с 96 лунками

(Eppendorf, Sample submission kit, BOLD System, CCDB, Canada), содержащими по капле 95 %-ого этилового раствора. Последнюю лунку оставляли интактной; она использовалась в качестве контроля (в ходе анализа в нее вносили буферный раствор). Во избежание загрязнения образцы насекомых помещали в лунки с помощью стерилизованного энтомологического пинцета (последний обрабатывали в 95%-ом спирте, кончики пинцета нагревали над пламенем спиртовки после каждого действия). Лунки закрывали стрипами. До проведения ДНК-баркодирования плашки хранили в морозильной камере при -20°C для предотвращения разрушения ДНК.

Из тел насекомых ДНК выделяли с применением набора XS kit, Macherey-Nagel (Германия), следуя инструкции производителя. Образцы амплифицировали в ходе полимеразной цепной реакции (ПЦР) в термоциклере 9800 Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems, США). Применяли набор праймеров: LCO (5' GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G 3') и HCO (5' TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA 3'). Анализ ампликонов проводили с применением электрофореза на пластинке 1%-ого геля из агарозы [93].

Ампликоны очищали с использованием специализированного набора PCR Clean-up kit, Macherey-Nagel (Германия). Очищенные образцы подвергали секвенированию по методу Сэнгера с применением набора реагентов Abi Prism® Big Dye® Terminator 3.1. Секвенирование осуществлялось при 25 термических циклах (10 с при 96°C , 5 с при 50°C , 4 мин при 60°C). Осаждение продуктов сиквенса выполняли на протяжении 40 мин в центрифуге при самой высокой скорости (14 680 об./мин). Молекулярно-генетические исследования были выполнены в ходе научной стажировки в предыдущие годы в лаборатории лесной зоологии при Национальном институте сельскохозяйственных исследований Франции (INRA, в настоящее время INRAE) в г. Орлеане. Анализ нуклеотидных последовательностей выполняли в генетическом анализаторе Applied Biosystems® 3100 (Applied Biosystems® Sanger, США). Электрофорограммы выверали и при необходимости

корректировали в компьютерном приложении CodonCode Aligner V.3.7.1 (CodonCode Corporation). Выравнивание сиквенсов осуществляли в программе BioEdit 7.2.5 [60]. Результирующие сиквенсы проверяли на содержание псевдогенов и стоп-кодонов. Таковых в полученных нуклеотидных последовательностях выявлено не было.

2.4.2 Секвенирование нового поколения

Для ДНК-баркодирования останков гусениц и куколок молей-пестрянок, обнаруженных в минах на гербарных образцах тополей, применяли метод секвенирования нового поколения (СНП). Этот метод позволяет использовать для секвенирования образцы с низкими концентрациями и частично разрушенной ДНК [65]. Важно, в ходе такого секвенирования нет этапа терминации и не используется капиллярный электрофорез (они имеют место быть при выполнении секвенирования по методу Сэнгера). При этом исследуемые фрагменты гена секвенируются многократно (до 300 повторов) для установления исходной композиции анализируемого гена [35]. Эффективность приборной базы для СНП за один запуск составляет более 100 млрд пар нуклеотидных оснований [63]. Существенными недостатками СНП является высокая стоимость процедуры и рутинная сборка множественных ридов (повторяющихся прочтений) анализируемого гена.

В возрастных останках насекомых осуществляли секвенирование до 15 перекрывающихся фрагментов (в диапазоне 100–300 нуклеотидов) участка гена COI мтДНК (658 п. н.), следуя предложенному подходу [43] для платформы Sequel (Pacific Biosciences (PacBio), технология III поколения, ДНК-баркодирование одиночных молекул в реальном времени). Причиной выбора данного метода являлись его высокая точность и эффективность [34]. Множественные полученные фрагменты гена выравнивали по отношению к референсному сиквенсу, используя программу Codon Code Aligner V.3.7.1 (CodonCode Corporation) для сборки нуклеотидных контигов.

Секвенирование осуществлялось в Канадском центре ДНК-баркодинга (Canadian Center for DNA-barcoding) при Гуэлфском университете (Канада).

2.4.3 Идентификация видов молей по их останкам с использованием ДНК-баркодинга

Определение таксономической принадлежности образцов по ДНК-баркодам выполнялось на платформе молекулярно-генетической базы BOLD (The Barcode of Life Data System) [84]. Она хранит секвенированные последовательности гена COI мтДНК более 40 тыс. образцов 2 тысяч видов семейства Gracillariidae и имеет связь с генбанком NCBI [77].

ДНК-баркоды тополевых молей-пестрянок из Сибири и других изученных регионов сравнивали с референсными с использованием алгоритма анализа внутри- и межвидовых дистанций на платформе базы данных BOLD. О принадлежности экземпляров насекомых к определенному биологическому виду дополнительно судили по соответствию анализируемых сиквенсов к определенному номеру BIN (Barcode Index Number). BIN – это уникальный числовой код видов, который присваивается образцам генетической базой BOLD [83]. При невозможности видовой диагностики в BOLD поиск гомологов осуществляли в генбанке NCBI [77] с использованием биоинформатического алгоритма BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [36].

2.4.4 Биоинформатический анализ данных

Филогенетические деревья строили для представителей *Ph. populifoliella* из разных географических популяций, а также для образцов молей-пестрянок, извлеченных из старых гербарных сборов, датируемых 1850–1974 гг. По полученным данным проводили расчет минимальной и максимальной внутри- и межвидовой генетической изменчивости по гену COI. Построение, а также анализ филогенетических деревьев выполняли с применением алгоритма максимального правдоподобия (Maximum Likelihood Estimation), двухпараметрической модели Кимуры (Kimura's two parameter model, или K2P model) и бутстрэп-метода с 1000–2500 повторностями в компьютерной программе MEGA X [75]. Топологию меток на ветвях деревьев считали достоверной при значении > 70 .

Карту распределения гаплотипов *Ph. populifoliella* в Палеарктике строили в программе ArtGIS 9.3 [49].

Файлы с выравненными сиквенсами форматировали из формата FASTA в NEXUS в онлайн-конвертере LIRMM [71]. Медианную сеть гаплотипов строили и анализировали с применением алгоритма парсимонии в компьютерном приложении PopArt [70], с уровнем значимости $p < 0,05$. Разнообразие гаплотипов (по гену COI) в современном ареале моли-пестрянки оценивали в программе DnaSP v 5.10.1 [45]. Различие популяций *Ph. populifoliella* из Азии (Сибири) и Европы по набору гаплотипов оценивали при помощи непараметрического U-критерия Манна – Уитни ($p < 0,05$) [74]. Источники вариабельности гена COI в популяциях насекомого анализировались с использованием дисперсионного анализа молекулярно-генетической изменчивости (AMOVA) [51]. Уровень достоверности параметров дисперсии оценивали с помощью алгоритма пермутации (10 000 итераций) в компьютерном приложении Arlequin 3.5.2.2 [52].

Для оценки зависимости числа выявленных гаплотипов от исследованной выборки образцов в популяциях тополевой моли-пестрянки в Палеарктике, а

также оценки зависимости успешности секвенирования гена COI из останков гусениц и куколок моли, извлеченных из листьев тополей из вековых гербарных сборов, от возраста образцов, применяли ранговую корреляцию Спирмена R (при $p < 0,05$). Под успешностью секвенирования в данной работе понимается длина успешно секвенированного фрагмента гена COI мтДНК, выраженная в п.н. (пар нуклеотидных оснований).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Разработка ДНК-библиотеки тополевой моли-пестрянки на платформе генетической базы BOLD

ДНК-библиотеки – это компьютерные базы данных, хранящие ДНК-баркоды (т.е. сиквенсы гена COI мтДНК), прочитанные последовательности других генов, электроферогаммы, а также данные по таксономии и географии полевых образцов (ваучеров), карт места сборов образцов, фотографии места сбора и образца (например, мины и насекомого).

ДНК-библиотека *Ph. populifoliella* разрабатывалась на платформе генетической базы BOLD (Barcode of Life Database, <http://www.boldsystems.org>). Это современная платформа для хранения и анализа генетических данных; для реализации последнего в нее встроены различные бионформатические алгоритмы [83, 84]. Библиотека создавалась согласно пользовательской инструкции BOLD [39].

Разработанная молекулярно-генетическая библиотека тополевой моли-пестрянки имеет название: “DS-POPМОН *Phyllonorycter populifoliella* in the Palearctic”. В ней были размещены на хранение сиквенсы, электроферогаммы и профили всех оригинальных (полученных автором) образцов тополевой моли из России – из азиатской части (из 11 административных регионов Сибири и РДВ) и европейской части России (Московской и Ленинградской областей). Сведения об образцах и сиквенсы гусениц тополевых молей-пестрянок из исторических гербариев (собранных в Европе и Северной Америке в 1850–1974 гг. также были помещены на хранение в данную библиотеку (рисунок 3). Более того сиквенсы вида со свободным доступом в BOLD или генбанке (NCBI), полученные другими авторами для разных стран Европы, дополнили разработанную библиотеку для сравнительного аспекта. На сегодняшний день в библиотеке хранятся сведения и сиквенсы 101 образца тополевых молей-

Изъято в связи с авторским правом 20 страниц

ВЫВОДЫ

1. На базе молекулярно-генетической платформы BOLD разработана обновляемая молекулярно-генетическая библиотека тополевой моли-пестрянки *Phyllonorycter populifoliella* и родственных видов, хранящая сиквенсы 101 образцов из Азии (преимущественно Сибири) и Европы.
2. Внутривидовая генетическая вариабельность *Ph. populifoliella* по гену COI мтДНК варьирует в пределах 0–3,73%, со средним значением 1,06%, что вписывается в известный порог внутривидовой изменчивости представителей семейства молей-пестрянок Gracillariidae. По гену COI мтДНК популяция вида из Индии характеризуется максимальной генетической дистанцией в сравнении с популяциями из Сибири и Европы.
3. В современном ареале *Ph. populifoliella* в Палеарктике выявлено 29 гаплотипов по гену COI мтДНК. По числу гаплотипов превалирует Азия (преимущественно Сибирь): 20 против 13 гаплотипов в Европе, тогда как при учете выборки гаплотипическое разнообразие между изученными частями света достоверно не отличается. В Индии в популяции вида выявлен один гаплотип, который не был идентифицирован в изученных выборках насекомых в Сибири и странах Европы. Для уточнения инвазионного происхождения тополевой моли-пестрянки в Индии требуются сбора и анализ дополнительных образцов.
4. С применением секвенирования нового поколения (платформа Sequel, PacBio) по останкам гусениц и куколок, обнаруженным в минах на листьях 173-летних гербарных образцов тополей из Европы, США и Канады, идентифицировано четыре вида тополевых молей-пестрянок: три палеарктических *Ph. populifoliella*, *Ph. pastorella*, *Ph. apparella* и один неарктический *Ph. nipigon*. Заносов *Ph. populifoliella* в Неарктику по исследованным историческим материалам 1850–1974 гг. не отмечено.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Атлас мира / под ред. С. И. Серегина, В. М. Антонова. – М.: Главное управление геодезии и картографии при Совете министров СССР, 1990. – 337 с.
2. Барышникова, С. В. Сем. Gracillariidae / С. В. Барышникова; под ред. А. С. Лилея // Аннотированный каталог насекомых Дальнего Востока России. Т. II. Lepidoptera – Чешуекрылые. – Владивосток: Дальнаука, 2016. – 812 с.
3. Барышникова, С. В. Сем. Gracillariidae / С. В. Барышникова; под ред. С. Ю. Синёва // Каталог чешуекрылых (Lepidoptera) России. – 2-е изд. – Санкт-Петербург: Зоологический институт РАН, 2019. – С. 36–43.
4. Белова, Н. К. Тополевая моль / Н. К. Белова, А. И. Воронцов // Защита растений. – 1987. – № 7. – С. 32–35.
5. Бикбулатова, Г. Г. Исследование распределения атмосферного увлажнения на территории Сибири и Дальнего Востока / Г. Г. Бикбулатова // Омский научный вестник. – 2011. – № 1 (104). – С. 232–235.
6. Бондаренко, Е. А. Массовое размножение тополевой моли-пестрянки *Phyllonorycter populifoliella* Tr. (Gracillariidae) на территории г. Санкт-Петербурга / Е. А. Бондаренко // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2008. – № 182. – С. 45–55.
7. Древесные растения для озеленения Новосибирска / В. Т. Бакулин, Е. В. Банаев, Т. Н. Встовская [и др.]. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, филиал «Гео», 2008. – 304 с.
8. Ермолаев, И. В. Трофические предпочтения тополевой моли-пестрянки / И. В. Ермолаев, Н. Ю. Сунцова, А. В. Трубицын // Защита и карантин растений. – 2011. – № 8. – С. 50.
9. Кириченко, Н. И. Методические подходы к исследованию насекомых, минирующих листья древесных растений / Н. И. Кириченко //

Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2014. – № 207. – С. 235–246.

10. Кириченко, Н. И. Современные сведения о таксономическом составе, распространении и трофических связях минирующих молей-пестрянок сем. Gracillariidae (Lepidoptera) в Сибири на основе ДНК-баркодинга / Н. И. Кириченко, П. Триберти, Е. Н. Акулов [и др.] // Энтомологическое обозрение. – 2019. – Т. 98, № 3. – С. 600–631.

11. Колосов, Ю. М. Тополевая моль (*Lithocolletis populifoliella* Fr.) / Ю. М. Колосов // «Зауральский край». – 1918. – № 50.

12. Коропачинский, И. Ю. Древесные растения Азиатской России / И. Ю. Коропачинский, Т. Н. Встовская. – 2-е изд. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, филиал «Гео», 2012. – 707 с.

13. Красноярск беззащитен перед полчищами тополиной моли // ВЕСТИ.RU: [сайт] – 2018. – 11 авг. – URL: <https://www.vesti.ru/article/1431326> (дата обращения: 29.05.2023).

14. Кузнецов, В. И. Сем. Gracillariidae (Lithocolletidae) – моли-пестрянки. Т. III. Чешуекрылые. – Ч. 2. / В. И. Кузнецов; под ред. В. И. Кузнецова // Насекомые и клещи – вредители сельскохозяйственных культур. – СПб.: Наука, 1999. – С. 9–45.

15. Кузнецов, В. И. Семейство Gracillariidae – моли-пестрянки: определитель насекомых европейской части СССР. Т. 4. Чешуекрылые. – Ч. 2. / В. И. Кузнецов; под общей ред. Г. С. Медведева. – Л.: Наука, 1981. – С. 149–311.

16. Лучник, З. И. Интродукция деревьев и кустарников в Алтайском крае / З. И. Лучник. – М.: Колос, 1970. – 656 с.

17. Погода и климат // Справочно-информационный портал «Погода и климат»: [сайт]. – 2023. – URL: www.pogodaiklimat.ru.

18. Полежаев, В. Борьба за существование у тополёвой моли (*Lithocolletis populifoliella* Tr.) / В. Полежаев // Зоологический журнал, 1934. – Т. XIII, № 3. – С. 67–75.

19. Протопопова, Е. Н. Рекомендации по озеленению городов и рабочих поселков Средней Сибири / Е. Н. Протопопова; Академия наук СССР, Сибирское отделение, Институт леса и древесины им. В.Н. Сукачева. – Красноярск: Красноярский рабочий, 1972. – 148 с.
20. Румянцев, П. Д. Биология тополёвой моли (*Lithocolletis populifoliella* Tr.) в условиях Москвы / П. Д. Румянцев // Зоологический журнал. – 1934. – Т. XIII, № 2. – С. 257–280.
21. Селиховкин, А. В. Встречаемость молей-пестрянок *Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke) и *Ph. pastorella* (Zeller) (Lepidoptera, Gracillariidae) на разных видах тополей / А. В. Селиховкин, А. А. Егоров, Д. Д. Ситникова, Н. А. Мамаев // Энтомологическое обозрение. – 2020. – Т. 99, № 2. – С. 1–9.
22. Селиховкин, А. В. Особенности популяционной динамики тополевой нижнесторонней моли-пестрянки *Phyllonorycter populifoliella* Tr. (Gracillariidae) / А. В. Селиховкин // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. – 2010. – № 192. – С. 220–235.
23. Скворцов, А. К. Гербарий: пособие по методике и технике / А. К. Скворцов. – М.: Наука, 1977. – 199 с.
24. Скворцов, А. К. О сибирском бальзамическом тополе / А. К. Скворцов // Бюллетень Главного ботанического сада. – 2007. – № 193. – С. 41–45.
25. Скворцов, А. К. Систематический конспект рода *Populus* в Восточной Европе, Северной и Центральной Азии / А. К. Скворцов // Вестник Главного ботанического сада РАН. – 2010. – № 196. – С. 62–73.
26. Соколов, С. Я. Род *Populus* L. – тополь / С. Я. Соколов, Н. В. Шипчинский, А. В. Ярмоленко // Деревья и кустарники СССР. Дикорастущие, культивируемые и перспективные для интродукции. Т. II. Покрытосеменные. – М. – Л.: Изд-во АН СССР, 1951. – С. 210–211.
27. Средняя Сибирь. Природные условия / под ред. И. П. Герасимова. – М.: Наука, 1964. – 492 с.

28. Сулханов, А. В. Экология городских популяций тополевой моли *Lithocolletis populifoliella* Tr. / А. В. Сулханов // Дендробионтные насекомые зеленых насаждений г. Москвы. – М.: Наука, 1992. – С. 70–97.
29. Тарасова, О. В. Насекомые-филлофаги зеленых насаждений городов: видовой состав и особенности динамики численности / О. В. Тарасова, А. В. Ковалев, В. Г. Суховольский, Р. Г. Хлебопрос. – Новосибирск: Наука, 2004. – 180 с.
30. Турова, Ю. Н. Опадение листьев тополя – существенный фактор смертности минера *Lithocolletis populifoliella* Tr. / Ю. Н. Турова // Энтомологические исследования в Сибири. – Красноярск: Красноярск. филиал Рус. энтомол. об-ва, 1998. – С. 70–73.
31. Усманов, А. У. Тополь. / А. У. Усманов. – Ташкент: Фан, 1971. – С. 262.
32. Флоров, Д. Н. Тополевая моль-пестрянка – вредитель зеленых насаждений г. Иркутска / Д. Н. Флоров // Труды Иркутского государственного университета им. А.А. Жданова, 1948. – Т. 3, № 2. – 20 с.
33. A new species of *Micrurapteryx* (Lepidoptera, Gracillariidae) feeding on *Thermopsis lanceolata* (Fabaceae) in southern Siberia and its hymenopterous parasitoids / N. I. Kirichenko, E. N. Akulov, P. Triberti, S. A. Belokobylskij // ZooKeys. – 2021. – № 1061. – P. 131–163. – <https://doi.org/10.3897/zookeys.1061.70929>
34. A Sequel to Sanger: amplicon sequencing that scales / P. D. N. Hebert, T. W. A. Braukmann, S. W. J. Prosser [et al.] // BMC Genomics. – 2018. – Vol. 19 (219). – P. 1–14.
35. A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers / M. A. Quail, M. Smith, P. Coupland [et. al] // BMC Genomics. – 2012. – Vol. 13, Iss. 341. – P. 1–13.
36. Altschul, S. F. Basic local alignment search tool / S. F. Altschul, W. Gish, W. Miller [et. al] // Journal of Molecular Biology. – 1990. – Vol. 215, Iss. 3. – P. 403–410.

37. *Antispila oinophylla* new species (Lepidoptera, Heliozelidae), a new North American grapevine leafminer invading Italian vineyards: taxonomy, DNA barcodes and life cycle / E. van Nieuwerkerken, D. Wagner, M. Baldessari [et. al] // ZooKeys. – 2012. – Vol. 170. – P. 29–77.
38. Biological identifications through DNA barcodes / P. D. N. Hebert, A. Cywinska, S. L. Ball, J. R. de Waard // Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2003. – Vol. 270, Iss. 1512. – P. 313–321.
39. BOLD Handbook. Version 4 [сайт] // BOLD Systems, Biodiversity Institute of Ontario. – 2023. – URL: <http://www.barcodinglife.org/index.php/Resources>
40. Brito, R. Description of three new species of *Phyllocnistis* Zeller, 1848 (Lepidoptera: Gracillariidae) from the Atlantic Forest, South Brazil, with notes on natural history and phylogeny / R. Brito, O. H. H. Mielke, G. L. Gonçalves, G. R. P. Moreira // Austral Entomology. – 2017b. – Vol. 58. – P. 27–51.
41. CBOL: The Consortium for the Barcode of Life [сайт] // Identifying species with DNA barcoding. National Museum of Natural History. – Washington, DC, USA. – 2023. – URL: <http://www.ibol.org/phase1/cbol/>.
42. De Prins, J. Global taxonomic database of Gracillariidae (Lepidoptera) [сайт] / J. De Prins, W. De Prins // Belgian Biodiversity Platform BELSPO. – 2023. – URL: <http://www.gracillariidae.net/>.
43. DNA barcodes from century-old type specimens using next generation sequencing / S. Prosser, J. Dewaard, S. Miller, P. Hebert // Molecular Ecology Resources. – 2016. – Vol. 16, Iss. 2. – P. 487–497.
44. DNA barcoding reveals a largely unknown fauna of Gracillariidae leaf-mining moths in the Neotropics / D. C. Lees, A. Y. Kawahara, O. Bouteleux [et. al] // Molecular Ecology Research. – 2013. – Vol. 14. – P. 286–296.
45. DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods / J. Rozas, J. C. Sánchez-DelBarrio, X. Messeguer, R. Rozas // Bioinformatics. – 2003. – Vol. 19. – P. 2496–2497.

46. Dooreenweerd, C. Extensive guidelines for preserving specimen or tissue for later DNA work / C. Dooreenweerd, K. Beentjes // Science: Naturalis (The Netherlands) [сайт]. – 2012. – URL: <https://science.naturalis.nl/media/medialibrary/2013/08/preservingdna.pdf>.
47. Ellis, W. Leafminers and plant galls of Europe [сайт] / W. Ellis // Plant parasites of Europe: leafminers, gallers and fungi. – The Netherlands. – 2023. – URL: <http://bladmineerders.nl/>.
48. Elton, C. S. The ecology of invasions by animals and plants / C. S. Elton; with contributions by D. Simberloff, A. Ricciardi. – Switzerland: Springer, 2nd edition, 2020. – 181 p.
49. ESRI. ArcGIS Desktop: Release 9.3 // New York St., Redlands, CA. – Environmental Systems Research Institute: [сайт] – 2008. – URL: <http://www.esri.com/software/arcgis/eval-help/arcgis-93>.
50. Evaluating DNA barcoding for species identification and discovery in European gracillariid moths / C. Lopez-Vaamonde, N. Kirichenko, A. Cama [et. al] // Frontiers in Ecology and Evolution. – 2021. – Vol. 9. – 626752. – P. 1–16. – <https://doi.org/10.3389/fevo.2021.626752>
51. Excoffier, L. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data / L. Excoffier, P. Smouse, J. Quattro // Genetics. – 1992. – Vol. 131, Iss. 2. – P. 479–491.
52. Excoffier, L. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows / L. Excoffier, H. E. L. Lischer // Molecular Ecology Resources. – 2010. – Vol. 10. – P. 564–567.
53. First report of the poplar leaf miner, *Phyllonorycter populifoliella* (Treitschke) (Lepidoptera: Gracillariidae) from India / P. R. Shashank, N. Singh, A. Harshana [et. al] // Zootaxa. – 2021. – Vol. 4915, Iss. 3. – P. 435–450. – <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4915.3.11>
54. Fossil-calibrated molecular phylogenies reveal that leaf-mining moths radiated several million years after their host plants / C. Lopez-Vaamonde, N.

Wikström, C. Labandeira [et. al] // Journal of Evolutionary Biology. – 2006. – Vol. 19. – P. 1314–1326.

55. From east to west across the Palearctic: Phylogeography of the invasive lime leaf miner *Phyllonorycter issikii* (Lepidoptera: Gracillariidae) and discovery of a putative new cryptic species in East Asia / N. Kirichenko, P. Triberti, I. Ohshima [et. al] // PLOS ONE. – 2017b. – Vol. 12, Iss. 2. – e0171104. – P. 1–22.

56. Genetic bottleneck in invasive species: the potato tuber moth adds to the list / N. Puillandre, S. Dupas, O. Dangles [et. al] // Biological Invasions. – 2007. – Vol. 10. – P. 319–333.

57. Genetic bottlenecks and successful biological invasions: the case of a recent *Lessepsian* migrant / D. Golani, E. Azzurro, M. Corsini-Foka [et. al] // Biology letters. – 2007. – Vol. 3, Iss. 5. – P. 541–545. –<https://doi.org/10.1098/rsbl.2007.0308>

58. Genomic treasure troves: complete genome sequencing of herbarium and insect museum specimens / M. Staats, R. H. Erkens, B. van de Vossenberg [et. al] // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8, Iss. 7. – e69189. – P. 1–11.

59. Gibson, C. M. Integrative taxonomy for continental-scale terrestrial insect observations / C. M. Gibson, R. H. Kao, K. K. Blevins, P. D. Travers // PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7, Iss. 5. – e37528. – P. 1–6.

60. Hall, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T. A. Hall // Nucleic Acids Symposium Series. – 1999. – Vol. 41. – P. 95–98.

61. Herbarium specimens reveal increasing herbivory over the past century / E. K. Meineke, A. T. Classen, N. J. Sanders, T. D. Davies // Journal of Ecology. – 2018. – Vol. 107. – P. 105–117.

62. Hering, E. M. Biology of the leaf miners / E. M. Hering. – Junk's – Gravenhage, 1951. – 490 p.

63. High throughput sequencing advances and future challenges / T. Pervaiz, A. Lotfi, M. Salman Haider [et. al] // Journal of Plant Biochemistry & Physiology. – 2017. – Vol. 5, Iss. 2. – P. 1–8.

64. iBOL. International Barcode of Life (2010–2023) [сайт]. – 2023. – URL: <http://ibol.org/>
65. Illumina: An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology [сайт]. – 2012. – URL: https://www.illumina.com/Documents/products/Illumina_Sequencing_Introduction.pdf.
66. Kirichenko, N. Invasive leafminers on woody plants: a global review of pathways, impact and management / N. Kirichenko, S. Augustin, M. Kenis // *Journal of Pest Science*. – 2018 – Vol. 92, Iss. 1. – P. 93–106.
67. Kirichenko, N. New species of leaf-mining *Phyllonorycter* (Lepidoptera Gracillariidae) from Siberia feeding on Caragana (Fabaceae) / N. Kirichenko, P. Triberti, C. Lopez-Vaamonde // *Zookeys*. – 2019. – Vol. 835. – P. 17–41.
68. Kirichenko, N. I. Tracing the invasion of a leaf mining moth in the Palearctic through DNA barcoding of historical herbaria / N. I. Kirichenko, E. V. Zakharov, C. Lopez-Vaamonde // *Scientific Reports*. – 2022. – Vol. 12. – № 5065. – <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08894-7>
69. Laštůvka, Z. A revision of the *Phyllonorycter ulicicolella* species group with description of a new species (Lepidoptera: Gracillariidae) / Z. Laštůvka, A. Laštůvka, C. Lopez-Vaamonde // *SHILAP Revista Lepidopterologia*. – 2013. – Vol. 41. – P. 251–265.
70. Leigh, J.W. PopART: Full-feature software for haplotype network construction / J.W. Leigh, D. Bryant // *Methods Ecol Evol*. – 2015. – Vol. 6, Iss. № 9. – P. 1110–1116.
71. LIRMM [сайт] : MAB: Méthodes et algorithmes pour la bio informatique // Laboratoire d'Informatique, de Robotique et de Microélectronique de Montpellier – URL: <http://www.lirmm.fr/> (дата обращения 14.05.2023).
72. Lopez-Vaamonde, C. Collecting, rearing, and preserving leaf-mining insects / C. Lopez-Vaamonde, N. Kirichenko, I. Ohshima; J. C. Santos; G.W. Fernandes (eds) // *Measuring arthropod biodiversity: a handbook of sampling*

methods. Chapter 17. – Springer ; Cham, 2021. – P. 439–466. – https://doi.org/10.1007/978-3-030-53226-0_17

73. Mandrioli, M. Factors affecting DNA preservation from museum- collected lepidopteran specimens / M. Mandrioli, F. Borsatti, L. Mola // *Entomologia Experimentalis et Applicata*. – 2006. – Vol. 120. – P. 239–244.

74. Mann, H. B. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other / H. B. Mann, D. R. Whitney // *Annals of Mathematical Statistics*. – 1947. – Vol. 18, Iss. 1. – P. 50–60.

75. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms / S. Kumar, G. Stecher, M. Li, C. Knyaz, K. Tamura // *Molec. Biol. Evol.* – 2018. – Vol. 35. – P. 1547–1549. – <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.

76. Mitochondrial and microsatellite DNA markers reveal a Balkan origin for the highly invasive horse-chestnut leaf miner *Cameraria ohridella* (Lepidoptera, Gracillariidae) / R. Valade, M. Kenis, A. Hernandez-Lopez [et. al] // *Molecular Ecology*. – 2009. – Vol. 18. – P. 3458–3470.

77. NCBI – National Center for Biotechnology Information [сайт]. – USA. – 2023. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

78. Nei, M. The bottleneck effect and genetic variability of populations / M. Nei, T. Maruyama, R. Chakraborty // *Evolution*. – 1975. – Vol. 29. – P. 1–10.

79. Nentwig, W. Introduction. Chapter 1 / W. Nentwig, M. Josefsson; eds. A. Roques, M. Kenis, D. Lees, C. Lopez-Vaamonde, W. Rabitsch, J.-Y. Rasplus, D. B. Roy // *Alien terrestrial arthropods of Europe*. – *BioRisk*, 2010. – Vol. 4(I). – P. 5–9.

80. Nevo, E. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life history correlates / E. Nevo, A. Beiles, Ben-Shlomo R. // *Lecture Notes Biomath.* – 1984. – № 53. – P. 13-213.

81. Ohshima, I. Natural history of leaf miners, and the methods for collecting, rearing and preparing specimens of them / I. Ohshima // *Biology of species interactions*. – Tokyo, Japan: Bun-ichi Sogo Shuppan Co., 2012. – P. 331–356 (in Japanese)

82. Ohshima, I. Techniques for continuous rearing and assessing host preference of a multivoltine leaf-mining moth, *Acrocercops transecta* (Lepidoptera: Gracillariidae) / I. Ohshima // Entomological Science. – 2005. – Vol. 8. – P. 227–228.
83. Ratnasingham, S. A DNA-based registry for all animal species: The Barcode Index Number (BIN) System / S. Ratnasingham, P. D. N. Hebert // PLOS ONE. – 2013. – Vol. 8, Iss. 7. – e66213. – P. 1–16.
84. Ratnasingham, S. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>) / S. Ratnasingham, P. D. N. Hebert // Molecular Ecology Notes. – 2007. – Vol. 7. – P. 355–364.
85. Shared but overlooked: 30 species of Holarctic Microlepidoptera revealed by DNA barcodes and morphology / J.-F. Landry, V. Nazari, J. R. de Waard [et. al] // Zootaxa. – 2013. – Vol. 3749. – P. 1–93.
86. Strutzenberger, P. DNA barcode sequencing from old type specimens as a tool in taxonomy: a case study in the diverse genus *Eois* (Lepidoptera: Geometridae) / P. Strutzenberger, G. Brehm, K. Fiedler // PLOS ONE. – 2012. – Vol. 7, Iss. 11. – e49710. – P. 1–7.
87. Sutrisno, H. The impact of storage times of museum insect specimens on PCR success: case study on moth collections in Indonesia / H. Sutrisno // HAYATI Journal of Biosciences. – 2012. – Vol. 19, Iss. 2. – P. 99–104.
88. Systematics of *Phyllocnistis* leaf-mining moths (Lepidoptera, Gracillariidae) feeding on dogwood (*Cornus* spp.) in Northeast Asia, with the description of three new species / N. Kirichenko, P. Triberti, S. Kobayashi [et. al] // ZooKeys. – 2018. – Vol. 736. – P. 79–118.
89. Taxonomic history and invasion biology of two *Phyllonorycter* leaf miners (Lepidoptera: Gracillariidae) with links to taxonomic and molecular datasets / J. De Prins, W. De Prins, E. De Coninck [et. al] // Zootaxa. – 2013. – Vol. 3709, Iss. 4. – P. 341–362.

90. Tóth, V. Phylogeographic pattern of the plane leaf miner, *Phyllonorycter platani* (Staudinger, 1870) (Lepidoptera: Gracillariidae) in Europe / V. Tóth, F. Lakatos // BMC Evolutionary Biology. – 2018. – Vol. 18, Iss. 135. – P. 1–12.
91. Tracking origins of invasive herbivores using herbaria and archival DNA: the case of the horse-chestnut leafminer / D. C. Lees, H. W. Lack, R. Rougerie [et. al] // Frontiers in Ecology and the Environment. – 2011. – Vol. 9. – P. 322–328.
92. Urbanization shapes the ecology and evolution of plant-arthropod herbivore interactions / L. S. Miles, S. T. Breitbart, H. H. Wagner, M. T. J. Johnson // Frontiers in Ecology and Evolution. 2019. – Vol. 7. – P. 1–13.
93. Von Lucotte, G. Introduction to molecular cloning techniques / G. Von Lucotte, F. Baneyx. – Wiley-Blackwell, 1993. – 298 p.
94. Wang, Y. Integrative insect taxonomy based on morphology, mitochondrial DNA, and hyperspectral reflectance profiling / Y. Wang, C. Nansen, Y. Zhang // Zoological Journal of the Linnean Society. – 2016. – Vol. 17, Iss. 2. – P. 378–394.

ПРИЛОЖЕНИЕ

Приложение А – Биогеографические данные образцов тополевой моли-пестрянки, вовлеченных в исследования.

№	ID образца в базе BOLD	Полевой ID образца	Стадия*	Кормовое растение	Страна	Город, регион	Дата сбора	Сборщик
Образцы насекомых из современного ареала								
<i>Phyllonorycter populifoliella</i>								
1	GMBMA 581-17	BIOUG 36676-B10	A	no data	Belarus	Minsk	07.X.2015	T. Lipinksaya
2	GMBMP 157-18	BIOUG 36770-A02	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
3	GMBMP 227-18	BIOUG 36770-F12	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
4	GMBMP 253-18	BIOUG 36771-A03	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
5	GMBMP 280-18	BIOUG 36771-C06	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
6	GMBMP 293-18	BIOUG 36771-D07	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
7	GMBMP 346-18	BIOUG 36772-A01	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
8	GMBMP 440-18	BIOUG 36772-H11	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
9	GMBMP 470-18	BIOUG 36773-C06	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
10	GMBMP 554-18	BIOUG 36774-B07	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
11	GMBMP 598-18	BIOUG 36774-F03	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
12	GMBMP 620-18	BIOUG 36774-H01	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
13	GMBM O1020-17	BIOUG 36782-A03	A	no data	Belarus	Minsk	22.VII.2016	T. Lipinksaya
14	GMBMR 376-17	BIOUG 36812-D10	A	no data	Belarus	Minsk	01.IX.2016	T. Lipinksaya
15	GMBMP 2792-18	BIOUG 36994-E05	A	no data	Belarus	Minsk	05.VIII.2016	T. Lipinksaya
16	GRAS0 13-13	NK103	L	<i>Populus nigra</i>	Bulgaria	Sofia	26.VII.2013	N. Kirichenko
17	CNFM 271-14	BIOUG 11016-E05	A	no data	Canada	Quebec	30.V.2013	F.Tremblay
18	LEFIC 167-10	MM03518	A	<i>Populus</i> sp.	Finland	Porvoo	02.VIII.2006	M. Mutanen
19	LEFIE 922-10	MM10292	A	<i>Populus nr. balsamifera</i>	Finland	Joensuu	no data	T. Mutanen
20	LEFIG 401-10	MM14424	A	<i>Populus nr. balsamifera</i>	Finland	Salo	no data	T. Mutanen

№	ID образца в базе BOLD	Полевой ID образца	Стадия*	Кормовое растение	Страна	Город, регион	Дата сбора	Сборщик
21	LEFIG 402-10	MM14425	A	<i>Populus nr. balsamifera</i>	Finland	Salo	no data	T. Mutanen
22	LEFIJ 4515-16	MM25291	A		Finland	Salo	21.VIII.2015	T. Mutanen
23	WOGRA 342-15	RMNH. 5013-731	A	<i>Populus balsamifera</i>	Finland	Laensi-Suomi	22.VII.2012	J. Itamies
24	GRACI 156-07	CLV26807	A	<i>ex Populus nigra</i>	France	Novo-sibirsk	01.VII.2006	C. Lopez Vaamonde
25	FBLMX 086-1	BC ZSM Lep 46402	A	no data	Germany	Bavaria	11.IX.2008	P. Lichtman-necker
26	FBLMX 087-11	BC ZSM Lep 46403	A	no data	Germany	Bavaria	28.VII.2008	P. Lichtman-necker
27	FGMLG 240-15	BC ZSM Lep 89356	A	no data	Germany	Bavaria	30.VIII.2008	G. Fuchs
28	GBMNB 45678-20	MK482115	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
29	GBMNB 45677-20	MK482116	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
30	GBMNB 45676-20	MK482117	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
31	GBMNB 45675-20	MK482118	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
32	GBMNB 45674-20	MK482119	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
33	GBMNB 45673-20	MK482120	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
34	GBMNB 45672-20	MK482121	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
35	GBMNB 45671-20	MK482122	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
36	GBMNB 45670-20	MK482124	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
37	GBMNB 45669-20	MK482125	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
38	GBMNB 45668-20	MK482126	A	<i>Populus sp. (hybrid)</i>	India	Ladakh	01.IX.2018	P. Shashank et al.
39	MPEA 287-08	CNCLEP 000-29585	A	<i>Populus sp.</i>	Lithuania	Vilnius	28.VII.2001	P. Ivinskis
40	GRPAL 061-10	DP09071	A	<i>Populus nigra</i>	Lithuania	Vilnius	17.VIII.2000	J. & W. De Prins
41	MICRU 063-15	NK508	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Barnaul	27.VII.2015	N. Kirichenko
42	SIBLE 142-18	NK653	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Barnaul	29.VII.2017	N. Kirichenko
43	SIBLE 050-17	NK561	P	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Blagoveshchensk	27.VI.2016	N. Kirichenko
44	MICRU 041-15	NK486	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Chita	11.VIII.2015	N. Kirichenko
45	MICRU	NK506	A	<i>Populus</i>	Russia	Irkutsk	08.VIII.2015	N. Kirichenko

№	ID образца в базе BOLD	Полевой ID образца	Стадия*	Кормовое растение	Страна	Город, регион	Дата сбора	Сборщик
	061-15			<i>balsamifera</i>				
46	SIBLE 046-17	NK557	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Irkutsk	18.VI.2016	N. Kirichenko
47	SIBLE 053-17	NK564	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Irkutsk	18.VI.2016	N. Kirichenko
48	GRPAL1 132-13	NK88	A	<i>Populus sp</i>	Russia	Komso- molsk- on-Amur	13.VII.2010	N. Kirichenko
49	GRACI 465-09	CLV16009	A	<i>ex Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	17.VIII.2009	N. Kirichenko
50	GRPAL 1080-13	CLV19116	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	18.VIII.2009	N. Kirichenko
51	GRPAL 1081-13	CLV19117	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	18.VIII.2009	N. Kirichenko
52	GRPAL 1082-13	CLV19118	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	18.VIII.2009	N. Kirichenko
53	GRPAL 1083-13	CLV19119	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	18.VIII.2009	N. Kirichenko
54	GRPAL 1084-13	CLV19120	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	18.VIII.2009	N. Kirichenko
55	GRPAL 1085-13	CLV19121	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	15.VIII.2009	N. Kirichenko
56	GRPAL 1086-13	CLV19122	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	15.VIII.2009	N. Kirichenko
57	GRPAL 1087-13	CLV19123	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	15.VIII.2009	N. Kirichenko
58	GRPAL 1109-13	NK65	L	<i>Populus balsamibera</i>	Russia	Krasno- yarsk	19.VI.2011	N. Kirichenko
59	GRPAL 1119-13	NK75	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	23.VII.2011	N. Kirichenko
60	GRPAL 1126-13	NK82	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	28.VI.2012	N. Kirichenko
61	SIBLE 041-17	NK552	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Krasno- yarsk	12.VI.2016	N. Kirichenko
62	GRPAL 1123-13	NK79	L	<i>Populus sp.</i>	Russia	Moskow	22.VII.2010	N. Kirichenko
63	GRPAL 1124-13	NK80	L	<i>Populus sp.</i>	Russia	Moskow	21.VII.2010	N. Kirichenko
64	GRACI 466-09	CLV16109	A	<i>ex Populus balsamifera</i>	Russia	Novo- sibirsk	16.VIII.2009	N. Kirichenko
65	GRPAL 1089-13	CLV19125	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Novo- sibirsk	16.VIII.2009	N. Kirichenko
66	GRPAL 1090-13	CLV19126	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Novo- sibirsk	16.VIII.2009	N. Kirichenko
67	GRAS0 12-13	NK102	L	<i>Populus sp.</i>	Russia	Omsk	29.VI.2013	N. Kirichenko
68	CAMRU 142-21	NK1057	L	<i>Populus nigra</i>	Russia	St.Peters- burg	16.VI.2021	N. Mamaev
69	CAMRU 143-21	NK1058	L	<i>Populus sp.</i>	Russia	St.Peters- burg	16.VI.2021	N. Mamaev

№	ID образца в базе BOLD	Полевой ID образца	Стадия*	Кормовое растение	Страна	Город, регион	Дата сбора	Сборщик
70	CAMRU 144-21	NK1059	L	<i>Populus</i> sp.	Russia	St.Petersburg	16.VI.2021	N. Mamaev
71	CAMRU 145-21	NK1060	L	<i>Populus</i> sp.	Russia	St.Petersburg	16.VI.2021	N. Mamaev
72	CAMRU 146-21	NK1061	L	<i>Populus</i> sp.	Russia	St.Petersburg	16.VI.2021	N. Mamaev
73	CAMRU 147-21	NK1062	L	<i>Populus</i> sp.	Russia	St.Petersburg	16.VI.2021	N. Mamaev
74	SIBLE 123-18	NK634	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2017	N. Kirichenko
75	PAROF 086-18	NK-18-86	L	<i>Populus</i> sp.	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
76	PAROF 087-18	NK-18-87	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
77	PAROF 088-18	NK-18-88	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
78	PAROF 089-18	NK-18-89	L	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
79	PAROF 090-18	NK-18-90	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
80	PAROF 091-18	NK-18-91	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tomsk	26.VI.2018	N. Kirichenko
81	MICRU 062-15	NK507	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Tyumen	24.VII.2015	N. Kirichenko
82	MICRU 042-15	NK487	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Ulan-Ude	10.VIII.2015	N. Kirichenko
83	PAROF 092-18	NK-18-92	A	attracted to the light	Russia	Ulan-Ude	01.VI.2015	S. Rudykh
84	PAROF 093-18	NK-18-93	A	attracted to the light	Russia	Ulan-Ude	01.VI.2015	S. Rudykh
85	PAROF 094-18	NK-18-94	A	attracted to the light	Russia	Ulan-Ude	01.VI.2015	S. Rudykh
=== <i>Phyllonorycter pastorella</i> (OUTGROUP) ===								
86	GRPAL 1088-13	CLV19124	A	<i>Populus balsamifera</i>	Russia	Novosibirsk	16.VIII.2009	N. Kirichenko
Образцы насекомых из гербарных коллекций**								
87	LMINH 160-19	NK784	L	<i>Populus canadensis</i>	Austria	no data	01.VII.1931	herbarium
88	LMINH 161-19	NK785	L	<i>Populus canadensis</i>	Austria	no data	01.VII.1886	herbarium
89	LMINH 162-19	NK786	L	<i>Populus canadensis</i>	Austria	no data	01.VII.1886	herbarium
90	LMINH 166-19	NK790	L	<i>Populus</i> sp.	Austria	Vienna	01.IV.1879	herbarium
91	LMINH 061-19	NK715	P	<i>Populus balsamifera</i>	Canada	Yukon	01.VII.1964	herbarium
92	LMINH 062-19	NK716	P	<i>Populus balsamifera</i>	Canada	Yukon	01.VII.1964	herbarium


№	ID образца в базе BOLD	Полевой ID образца	Стадия*	Кормовое растение	Страна	Город, регион	Дата сбора	Сборщик
93	LMINH 140-19	NK764	L	<i>Populus balsamifera</i>	Canada	Quebec	01.VIII.1974	herbarium
94	LMINH 164-19	NK788	L	<i>Populus nigra</i>	Poland	Lower Silesian	13.VII.1899	herbarium
95	LMINH 163-19	NK787	L	<i>Populus sp.</i>	Spain	Catalonia	01.07.1925	herbarium
96	LMINH 050-19	NK704	L	<i>Populus nigra</i>	Spain	Galicia	10.VII.1912	herbarium
97	LMINH 150-19	NK774	L	<i>Populus nigra</i>	Turkmenistan	Ashgabat	13.VI.1901	herbarium
98	LMINH 159-19	NK783	L	<i>Populus balsamifera</i>	USA	Connecticut	01.VII.1850	herbarium
99	LMINH 157-19	NK781	L	<i>Populus balsamifera</i>	USA	Michigan	19.VIII.1974	herbarium
100	LMINH 158-19	NK782	L	<i>Populus balsamifera</i>	USA	Michigan	19.VIII.1974	herbarium
=== <i>Phyllocnistis unipunctella</i> (OUTGROUP) ===								
101	LMINH 148-19	NK772	L	<i>Populus candicans</i>	Russia	Kalinin-grad	26.VIII.1892	herbarium

* Стадия: А – имаго, L – гусеница, Р – куколка. ** Определения видов даны на рисунке 12.

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Институт фундаментальной биологии и биотехнологий
Кафедра геномики и биоинформатики

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой


И.Е. Ямских
подпись Инициалы, фамилия

« 23 » июня 20 ____ г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Филогеография тополевой моли-пестрянки *Phyllonorycter populifoliella*
(Lepidoptera: Gracillariidae) – массового вредителя тополей в Сибири

06.04.01 – Биология

06.04.01.06 – Геномика и биоинформатика

Руководитель


подпись, дата

профессор, к.б.н.
должность, ученая степень

Крутовский К.В.
фамилия, инициалы


Выпускник


подпись, дата

ББ21-06М
номер группы

Кириченко Н.И.
фамилия, инициалы

Рецензент


подпись, дата

профессор, д.с-х.н.
должность, ученая степень

Тарасова О.В.
фамилия, инициалы