

УДК 595.42

**К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТИ ВИДОВОЙ ДИАГНОСТИКИ *TETRANYCHUS URTICAE* И *T. ATLANTICUS* (ACARI: TETRANYCHIDAE) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МТ-ГЕНА COI****Н.Д. Коноплёв<sup>1</sup>, А.Н. Игнатов<sup>2,3</sup>, С.Я. Попов<sup>1</sup>**<sup>1</sup>РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, [www.timacad.ru](http://www.timacad.ru), Москва<sup>2</sup>ООО Исследовательский центр “ФитоИнженерия”, [www.phytoengineering.ru](http://www.phytoengineering.ru), с. Рогачево, Московская обл.<sup>3</sup>Российский университет дружбы народов, [www.rudn.ru](http://www.rudn.ru), Москва

В последние 10–15 лет при проведении видовой диагностики членистоногих широко используют молекулярные методы. Они показали особенно значимыми при работе с представителями паутиных клещей рода *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) в связи с высокой сложностью их видовой идентификации традиционным, морфологическим способом. Тем не менее, в ряде случаев при проведении диагностики близких видов паутиных клещей с помощью ПЦР случаются сбои, связанные с несовершенством применяемых методик. Для оценки возможностей видовой идентификации при помощи ПЦР проведен анализ доминирующей в подобных исследованиях методики молекулярной диагностики по гену цитохром-С оксидазы-I (гену COI). Исследование проводилось на примере широко распространенных на евроазиатском континенте значимых видов фитофагов – обыкновенного паутинового клеща *Tetranychus urticae* Koch, 1836, и атлантического паутинового клеща *Tetranychus atlanticus* McGregor, 1941 (именуемого в мировой сводке зоологической номенклатуры *Tetranychus turkestanii* Ugarov et Nikolski, 1937). Использовались образцы, отобранные из 29 различных мест России и одной японской популяции. Достаточно большая часть тестируемого материала была предварительно подвергнута видовому анализу по значимым морфологическим признакам (форме и размеру эдегуса самца). ПЦР-анализ показал, что особи каждой протестированной популяции паутиных клещей принадлежали одному из двух упомянутых видов, однако различия в последовательностях исследуемого гена между данными видами оказались столь малыми, что не позволили разделить их на обособленные таксономические единицы. Полученные результаты подтвердили ранее выдвинутые рядом зарубежных исследователей предположения о несостоятельности использования гена COI при идентификации паутиных клещей видов *T. urticae* и *T. atlanticus*. В то же время приведенная методика позволила достоверно определить принадлежность тестируемых клещей к роду *Tetranychus*.

**Ключевые слова:** Tetranychidae, *Tetranychus urticae*, *Tetranychus atlanticus*, *Tetranychus turkestanii*, COI, видовой диагностика.

Видовая идентификация организмов – первый шаг в биологических исследованиях. Традиционная видовой диагностика насекомых и клещей основана преимущественно на морфологических различиях. Однако у ряда членистоногих различия в пределах рода немногочисленны и выражены слабо. В связи с этим в последние десятилетия широко используются методы видовой диагностики, основанные на ПЦР.

К членистоногим, морфологическая диагностика которых затруднена, относятся паутиные клещи рода *Tetranychus* (Acariiformes: Tetranychidae), включающие ряд экономически важных видов, распространенных на больших территориях земного шара. Среди них своей значимостью выделяются следующие виды: обыкновенный паутиный клещ – *Tetranychus urticae* Koch, 1836; туркестанский паутиный клещ – *Tetranychus turkestanii* Ugarov et Nikolski, 1937 и атлантический паутиный клещ *Tetranychus atlanticus* McGregor, 1941 (sensu Mitrofanov et al., 1987). Необходимо отметить, что название последнего вида нами сохранено согласно “Определителю тетраниховых клещей фауны СССР и сопредельных стран” [Митрофанов и др., 1987], однако в мировой сводке зоологической номенклатуры он именуется как *Tetranychus turkestanii* Ugarov et Nikolski, 1937, и *T. atlanticus* сведен к нему в синоним.

Паутиные клещи рода *Tetranychus* преимущественно являются полифагами, что в совокупности с высокими темпами размножения делает их серьезными вредителями ценных сельскохозяйственных растений как в открытом, так и защищенном грунте. Представители рода

*Tetranychus* распространены очень широко, различные виды могут встречаться во всех регионах мира. К примеру, один из наиболее важных видов – *T. urticae*, является безусловным космополитом. *T. atlanticus* обнаружен в широком поясе от стран Западной Европы на Восток до Омска [Попов, 2013].

Традиционные методы идентификации паутиных клещей, основанные на морфологических признаках, трудоемки и требуют большого опыта из-за сравнительно небольшого числа признаков в пределах одного вида и сложности их выявления. В последнее время для видовой дифференциации паутиных клещей все чаще используются методы генетического анализа, которые не требуют специальных знаний и навыков относительно изучаемых объектов, а также неспецифичны к полу и стадии развития анализируемых особей. В качестве маркера для генетического анализа членистоногих и, в частности, паутиных клещей, широко используется ген митохондриальной ДНК, кодирующий цитохром-С оксидазу-I (далее – ген COI). Последовательность пар нуклеотидов в локусе этого гена отличается большими различиями между видами и, одновременно, небольшой внутривидовой вариацией, что должно предполагать относительно высокую точность идентификации паутиных клещей.

Целью данной работы является оценка возможностей молекулярной видовой диагностики по гену COI на примере особей двух достоверно различаемых морфологически видов паутиных клещей – *T. urticae* и *T. atlanticus*, отобранных в России.

## Материалы и методы

## Паутинные клещи

Список популяций паутинных клещей, использовавшихся в данном исследовании, с указанием мест отбора и растений-хозяев, представлен в таб. 1. Часть образцов (№1–6) была собрана в ходе обследований, проведенных С.Я. Поповым (РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева), а образцы №7–30 были предоставле-

ны в виде секвенированных нуклеотидных последовательностей сотрудниками ФГБУ “Россельхозцентр” и сотрудниками ряда частных сельскохозяйственных предприятий. Маточные колонии клещей первой группы популяций (№1–6) поддерживаются на кафедре защиты растений РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.

Таблица 1. Список популяций паутинных клещей, используемых в исследовании

№	Вид (по морф. признакам)	Дата сбора, год	Место сбора	Растение-хозяин
1	<i>T. atlanticus</i>	2010	Краснодарский край, г. Краснодар	Дурнишник ( <i>Xanthium</i> sp.)
2	<i>T. atlanticus</i>	2010	Омская обл., г. Омск	Земляника ( <i>Fragaria</i> sp.)
3	<i>T. atlanticus</i>	2010	Московская обл., г. Москва, РГАУ-МСХА	Борщевик ( <i>Heracleum</i> sp.)
4	<i>T. urticae</i>	2013	Волгоградская обл., Новоаннинский р-н, у лесной опушки	Кирказон ( <i>Aristolochia</i> sp.)
5	<i>T. urticae</i>	2001	Япония, префектура Хоккайдо, г. Такикава	Арбуз обыкновенный ( <i>Citrullus lanatus</i> )
6	<i>T. atlanticus</i>	2012	Волгоградская обл., г. Новоаннинский, 15–20 м вглубь леса от опушки	Кирказон ( <i>Aristolochia</i> sp.)
7	<i>T. urticae</i>	2009	Московская обл., с. Дубки, ВНИИССОК	Баклажан ( <i>Solanum melongena</i> )
8	<i>T. urticae</i>	2009	Московская обл., с. Дубки, ВНИИССОК	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
9	<i>T. urticae</i>	2009	Московская обл., с. Дубки, ВНИИССОК	Баклажан ( <i>Solanum melongena</i> )
10	<i>T. urticae</i>	2009	Московская обл., г. Москва, ГБС им. Цицина РАН	Роза ( <i>Rosa</i> sp.)
11	<i>T. urticae</i>	2010	Костромская обл., с. Минское	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
12	<i>T. urticae</i>	2010	Тверская обл., г. Лихославль, частные теплицы	Фасоль ( <i>Phaseolus</i> sp.)
13	<i>T. urticae</i>	2010	Владимирская обл., г. Суздаль, частные теплицы	Баклажан ( <i>Solanum melongena</i> )
14	<i>T. urticae</i>	2010	Псковская обл., д. Опочицы	Земляника ( <i>Fragaria</i> sp.)
15	<i>T. urticae</i>	2010	Ленинградская обл., Гатчинский р-н	Роза ( <i>Rosa</i> sp.)
16	<i>T. urticae</i>	2011	Московская обл., г. Ступино	Земляника ( <i>Fragaria</i> sp.)
17	<i>T. urticae</i>	2011	Тамбовская обл., г. Мичуринск, открытый грунт	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
18	<i>T. urticae</i>	2011	Воронежская обл., г. Борисоглебск	Борщевик ( <i>Heracleum</i> sp.)
19	<i>T. urticae</i>	2011	Саратовская обл., г. Балашев	Баклажан ( <i>Solanum melongena</i> )
20	<i>T. urticae</i>	2011	Саратовская обл., г. Саратов	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
21	<i>T. urticae</i>	2011	Волгоградская обл., г. Камышин	Фасоль ( <i>Phaseolus</i> sp.)
22	<i>T. urticae</i>	2011	Волгоградская обл., г. Волгоград	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
23	<i>T. urticae</i>	2011	Волгоградская обл., г. Волгоград	Перец ( <i>Capsicum</i> sp.)
24	<i>T. urticae</i>	2011	Волгоградская обл., г. Волгоград	Арбуз обыкновенный ( <i>Citrullus lanatus</i> )
25	<i>T. urticae</i>	2011	Волгоградская обл., г. Волгоград	Огурец ( <i>Cucumis sativus</i> )
26	<i>T. urticae</i>	2011	Ростовская обл., г. Волгодонск	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
27	<i>T. urticae</i>	2011	Ростовская обл., г. Волгодонск	Роза ( <i>Rosa</i> sp.)
28	<i>T. urticae</i>	2011	Ростовская обл., г. Волгодонск	Земляника ( <i>Fragaria</i> sp.)
29	<i>T. urticae</i>	2011	Ростовская обл., г. Волгодонск	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )
30	<i>T. urticae</i>	2011	Ростовская обл., г. Волгодонск	Томат ( <i>Solanum lycopersicum</i> )

Маточные колонии культивировались на срезанных листьях фасоли обыкновенной (*Phaseolus vulgaris*), помещенных на ватные колобки в кюветах с водой при следующих условиях: температуре – 17–22 °С, относительной влажности – 70±10%, фотопериоде (L:D) – 16:8 час.

Морфологический анализ *T. urticae* и *T. atlanticus*

Видовая принадлежность каждой самки, включаемой в маточные колонии №1–6, тестировалась по ее потомству – самцам, помещаемым в постоянные препараты с модифицированной жидкостью Свана, с последующим высушиванием и микроскопированием при фазовом контрасте при 800–1200-кратном увеличении. Морфологический анализ паутинных клещей рода *Tetranychus* проводился по форме и размеру эдеагуса самцов.

Самцы *T. urticae* имеют эдеагус с рукояткой и крючком, образующими тупой угол. Рукоятка эдеагуса без бульбообразного утолщения в основании и уменьшается к бородке почти равномерно, передний и задний отростки бородки явственные, более-менее симметричные, несколько заострены. Дорсальная поверхность бородки округлая с наиболее высокой точкой в

середине. Диаметр бородки эдеагуса равен в среднем 2.49 µm, варьируя от 2.4 до 2.6, редко до 2.7 µm [Попов, 2013].

Самцы *T. atlanticus* имеют эдеагус с рукояткой и крючком, образующими тупой угол. Рукоятка эдеагуса без бульбообразного утолщения в основании. Дорсальная поверхность бородки эдеагуса тупоугольная с закругленной вершиной, смещенной к заднему отростку. Передний и задний отростки бородки примерно равны по длине, причем передний – с явственной закругленной вершиной, задний – клювовидный, заостренный. Диаметр бородки – в среднем 4.48 µm, варьируя от 4.4 до 4.6 µm, редко достигая значений с одной стороны до 4.8 µm (рис. 1) [Попов, 2013].

Таким образом, самостоятельность *T. atlanticus* и *T. urticae* по морфологическому видовому критерию не подлежит сомнению.

Образцы №7–30, предоставленные в виде секвенированных последовательностей ДНК, были изначально обозначены как *T. urticae*.

## Выделение ДНК и условия ПЦР

С целью исключения действия различных размеров тел самок и самцов, ДНК выделялась путем гомогенизации одиноч-

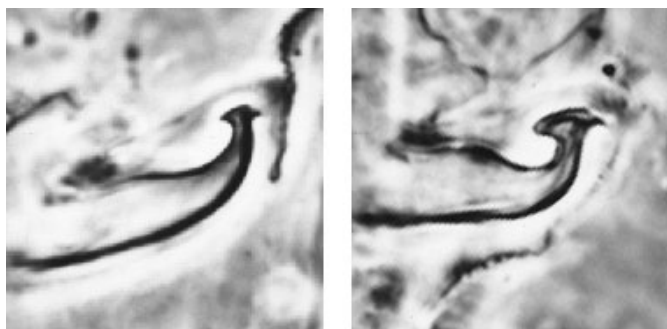


Рисунок 1. Эдеагус самцов *T. urticae* (слева) и *T. atlanticus* (справа) [Попов, 2013].

ных взрослых клещей в 15 мкл (самцы) или в 25 мкл (самки) смеси STE буфера (100 ммоль NaCl, 10 ммоль Tris-HCl, 1 ммоль EDTA, pH 8.0) и протеиназы К (10 мг/мл, 2 мкл) в 1.5 мл пробирке Eppendorf. Смесь инкубировалась 30 минут при 37 °С, а затем – 5 минут при 95 °С [Multiple Infections with *Cardinium*..., 2013]. Амплификация проводилась с использованием комплекта реактивов “Epcyclo Plus PCR kit” (Евроген, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Для амплификации фрагментов гена COI использовались стандартные праймеры, они представлены в таб. 2. Общий протокол амплификации: предварительная денатурация – 4 мин при 94 °С, затем 35 циклов по 1 мин при 94 °С, 1 мин при 48 °С, 1 мин при 72 °С, и финальная элонгация – 4 мин при 72 °С. Протокол амплификации оптимизировался при необходимости. Продукты ПЦР визуализировались на 1.5% агарозном геле в 0.5X TAE буфере.

#### Секвенирование и филогенетический анализ

При подготовке к секвенированию продукты ПЦР были очищены комплектом “Cleanup Standard” (Евроген, Россия) и

#### Результаты и их обсуждение

Проблема дискриминации морфологически достоверно различающихся видов *T. urticae* и *T. turkestanii* на основе последовательности гена COI возникла почти с самого начала использования ПЦР-методики. В частности, Навайас и Бурсо [Navajas, Boursot, 2003] обнаружили, что эти два вида полифилетичны по митохондриальной ДНК (COI), но монофилетичны по ядерной рибосомальной ДНК (ITS2). Авторы смогли разделить данные виды на основе последовательностей ITS2, однако различия были основаны только на трёх диагностических сайтах. Позднее Рос и Брееувер [Ros, Vreeuwer, 2007], используя ген COI, подтвердили, что указанные два вида не образуют отдельные монофилетические клады и поставили под сомнение существование *T. turkestanii* как отдельного вида. Мацуда с соавторами [DNA-Based Identification of Spider Mites..., 2013] в обзоре, проведя анализ 13 видов рода *Tetranychus*, отметил, что все эти виды могут быть идентифицированы на основе последовательности гена COI, однако годом позже [Phylogenetic analysis of the spider mite..., 2014] уточнил, что *T. urticae* и *T. turkestanii* можно разделить при помощи генов 18S и 28S рРНК.

#### Заключение

Нами на материале российского происхождения показано, что методика видовой диагностики паутинных клещей по гену COI несовершенна и не позволяет различать

Таблица 2. Список праймеров, используемых в исследовании

Название	Последовательность
mite1	GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTC
mite2	AAWCCTCTAAAAATRGCAATACRGC
mite3	TGATTTTTTGGTCACCCAGAAG
mite4	TACAGCTCCTATAGATAAAAC

повторно визуализированы на агарозном геле. Секвенирование проводили по методу Сэнгера [Sanger, Coulson, 1975] на автоматическом секвенаторе “ABI PRISM 3730” (Applied Biosystems, США). Использовался набор реактивов “BigDye Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit” (Applied Biosystems, США) согласно инструкции по применению. Каждая последовательность была секвенирована с использованием прямых праймеров по меньшей мере дважды. Первичный анализ полученных последовательностей проводили с помощью пакета BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Выравнивание гомологичных последовательностей проводили с помощью программы CLUSTALW v 1.75 [The CLUSTAL\_X windows interface..., 1997]. Проверку и редактирование последовательностей вручную проводили с помощью редактора BioEdit v 7 [Hall, 1999]. Построение филогенетических деревьев проводили с использованием алгоритмов ME (minimum evolution) [Saitou, Nei, 1987], реализованного в пакете программ MEGA 5.0 [Nei, Kumar, 2000]. Статистическая достоверность полученных деревьев рассчитывалась с помощью бутстреп (“bootstrap”)-анализа путем построения 100 альтернативных деревьев и дана в процентах от исходного значения. Все полученные последовательности гена COI были депонированы в GenBank NCBI (The National Center for Biotechnology Information, США) под номерами KX648257-KX648290.

Для оценки принадлежности полученных последовательностей ДНК клещей тем или иным видам, из GenBank NCBI были отобраны последовательности гена COI различных видов паутинных клещей, а также более отдаленных представителей членистоногих. По полученной совокупности последовательностей построено филогенетическое дерево (рис. 2).

Как видно из рис. 2, все полученные последовательности гена COI сгруппировались с *T. urticae* / *T. turkestanii* (= *T. atlanticus*), полученными из GenBank, что указывает на принадлежность клещей всех исследуемых популяций одному из данных видов. При этом не наблюдается явной видовой дифференциации между нуклеотидными последовательностями, чего не происходит с образцами других видов. Таким образом, мы удостоверяем, что и образцы *T. urticae* и *T. atlanticus*, полученные из России, не разделяются по изучаемой последовательности.

Необходимо отметить, что филогенетическое дерево, полученное для гена COI, отражает эволюцию данного конкретного гена, а не организма в целом, и может вступать в противоречия с результатами морфологического анализа или анализа полного генома исследуемого объекта.

два массовых вида – *T. urticae* и *T. atlanticus*. В то же время данная методика может служить способом точной родовой идентификации данных видов паутинных клещей.

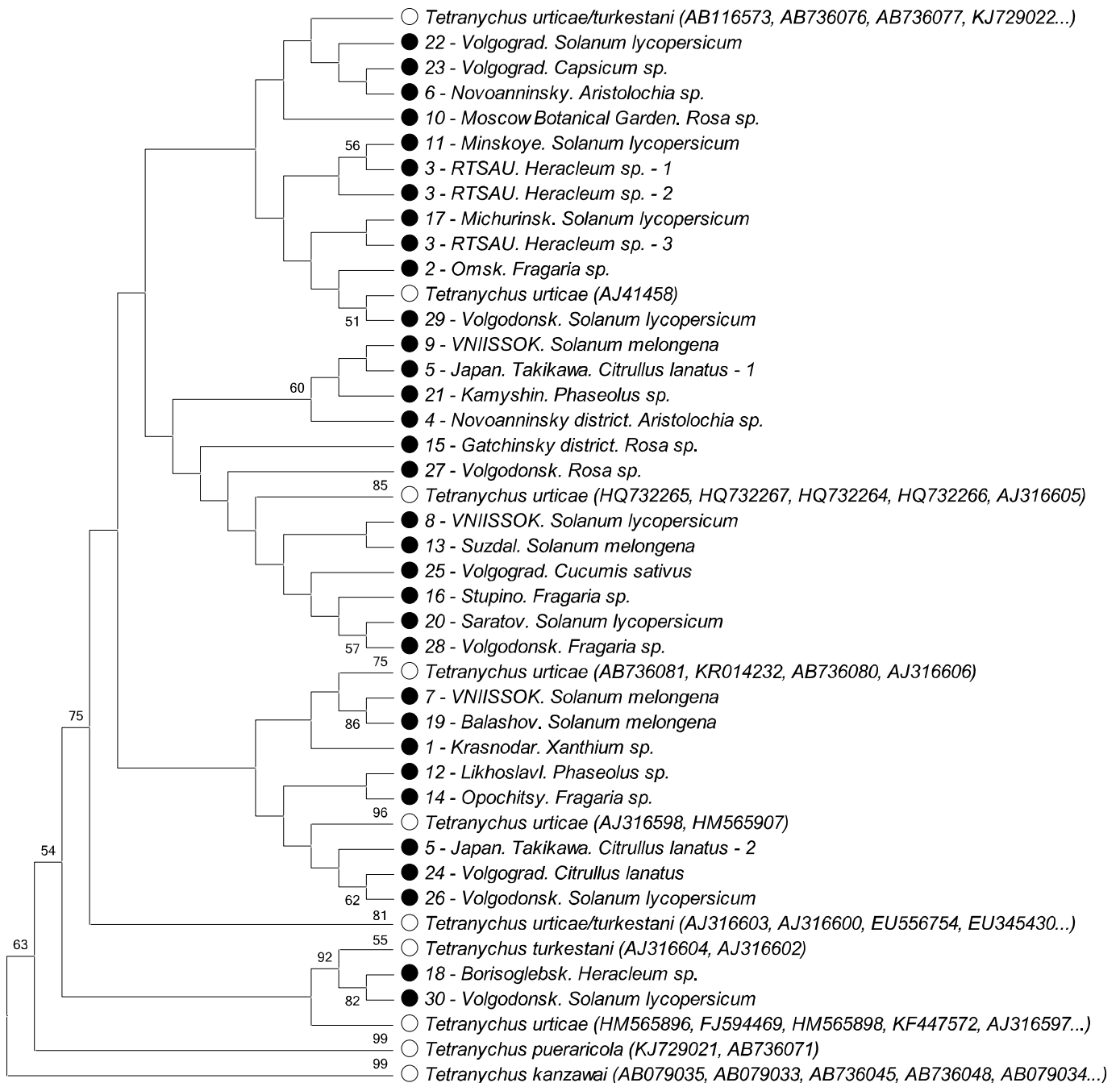


Рисунок 2. Анализ сходства фрагментов ДНК паутиных клещей исследуемых популяций (чёрные маркеры) с гомологичными фрагментами гена COI паутиных клещей, отобранными из GenBank NCBI (белые маркеры).

Рядом с ветвями показан процент повторяющихся деревьев, в которых сопряженные таксоны объединены при бутстреп-тесте.

#### Библиографический список

- Митрофанов В.И. Определитель тетраниховых клещей фауны СССР и сопредельных стран (Tetranychidae, Bryobiidae) / В.И. Митрофанов, З.И. Стрункова, И.З. Лившиц; ред. В.Г. Бабаева. Душанбе: Дониш. 1987. 223 с.
- Попов С.Я. Таксономический статус ряда видов паутиных клещей рода *Tetranychus* (Acari, Tetranychidae) и репродуктивные барьеры при скрещивании морфологически близких и отдаленных видов / С.Я. Попов // Экологические аспекты ограничения вредоносности популяций насекомых и клещей: сборник статей. М.: Издательство РГАУ-МСХА. 2013. С. 224–259.
- DNA-Based Identification of Spider Mites: Molecular Evidence for Cryptic Species of the Genus *Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) / T. Matsuda et al. // Journal of Economic Entomology. 2013. Vol. 106. N1. P. 463–472.
- Hall T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT / T.A. Hall // Nucleic Acids Symp. Ser. 1999. Vol. 41. P. 95–98.
- Multiple Infections with *Cardinium* and Two Strains of *Wolbachia* in The Spider Mite *Tetranychus phaseolus* Ehara: Revealing New Forces Driving the Spread of *Wolbachia* / D.-X. Zhao et al. // PLoS ONE. 2013. Vol. 8. N 1. P. 1–9.
- Navajas M. Nuclear ribosomal DNA monophyly versus mitochondrial DNA polyphyly in two closely related mite species: the influence of life history and molecular drive / M. Navajas, P. Boursot // Proceedings. Biological sciences / The Royal Society. 2003. Vol. 270. N1. P. 124–127.
- Nei M. Molecular Evolution and Phylogenetics / M. Nei, S. Kumar. New York: Oxford University Press. 2000. 333 p.
- Phylogenetic analysis of the spider mite sub-family Tetranychinae (Acari: Tetranychidae) based on the mitochondrial COI gene and the 18S and the 5' end of the 28S rRNA genes indicates that several genera are polyphyletic / T. Matsuda et al. // PLoS one. 2014. Vol. 9. N10. P. 1–12.
- Ros V.I.D. Spider mite (Acari: Tetranychidae) mitochondrial COI phylogeny reviewed: host plant relationships, phylogeography, reproductive parasites and barcoding / V.I.D. Ros, J. a J. Breeuwer // Experimental & applied acarology. 2007. Vol. 42. N4. P. 239–262.

Saitou N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees / N. Saitou, M. Nei // *Molecular biology and evolution*. 1987. Vol. 4. N 4. P. 406–425.

Sanger F. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase / F. Sanger, A.R. Coulson // *Journal of molecular biology*. 1975. Vol. 94. N 3. P. 441–418.

The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools / J.D. Thompson et al. // *Nucleic acids research*. 1997. Vol. 25. N 24. P. 4876–4882.

#### Translation of Russian References

Mitrofanov V.I. The determiner of the Tetranychoida mites of the USSR and neighboring countries fauna (Tetranychidae, Bryobiidae) / V.I. Mitrofanov, Z.I. Strunkova, I.Z. Livshits; ed. V.G. Babaeva. Dushanbe: Donish. 1987. 223 p. (In Russian).

Popov S.Ya. Taxonomic status of some spider mites species of the genus

*Tetranychus* (Acari: Tetranychidae) and reproductive barriers in crossings between morphologically adjacent and distant species / S.Ya. Popov // *Ecological aspects of limiting the harmfulness of insects and mites populations: a collection of articles*. Moscow: Izdatel'stvo RGAU-MSKha. 2013. P. 224–259. (In Russian).

*Plant Protection News*, 2017, 4(94), p. 43–47

## TO QUESTION OF OPPORTUNITY OF *TETRANYCHUS URTICAE* AND *T. ATLANTICUS* (ACARI: TETRANYCHIDAE) IDENTIFICATION USING MTDNA COI GENE

N.D. Konoplev<sup>1</sup>, A.N. Ignatov<sup>2,3</sup>, S.Ya. Popov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Russian State Agrarian University, Moscow, Russia*

<sup>2</sup>*“Phytoengineering” R&D Center, Rogachevo, Moscow Region, Russia*

<sup>3</sup>*Peoples' Friendship University, Moscow, Russia*

Cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene-based polymerase chain reaction (PCR) was used to estimate opportunity of *Tetranychus* species identification. The study was carried out using the example of widespread on the Eurasian continent and important phytophagous species, two-spotted spider mites *T. urticae* Koch, 1836 and *T. atlanticus* McGregor, 1941. Mite individuals were collected from 29 different places in Russia and from one Japanese population. A sufficiently large part of the test material was preliminarily subjected to a species analysis by significant morphological traits (the shape and size of male aedeagus). PCR-analysis showed that individuals of all the investigated spider mites belong to the two mentioned species, but differences in the sequences of analyzed gene between these species were small to divide the specimens into separate taxonomic units. Obtained results confirmed the previously advanced assumptions of a number of foreign researchers on the inadequacy of COI gene for identification of *T. urticae* and *T. atlanticus*.

**Keywords:** Tetranychidae; *Tetranychus urticae*; *Tetranychus atlanticus*; *Tetranychus turkestanii*; COI; species diagnostics.

#### Сведения об авторах

РГАУ – МСХА имени К. А. Тимирязева, 127550, Россия, Москва, ул. Тимирязевская, 49.

\*Коноплев Никита Дмитриевич. Аспирант каф. защиты растений, e-mail: konoplev.nd@gmail.com

Попов Сергей Яковлевич. Зав. каф. защиты растений, д.б.н., профессор, e-mail: sergei\_ya\_popov@timacad.ru

Исследовательский центр “ФитоИнженерия”, 141080, Россия, Московская обл. Дмитровский р-н. с. Рогачево, ул. Московская, 58.

Игнатов Александр Николаевич. Зам. генерального директора, д.б.н., профессор, e-mail: an.ignatov@gmail.com

#### Information about the authors

Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy, 127550, Russia, Moscow, Timiryazevskaya street, 49.

\*Konoplev Nikita Dmitrievich. Postgraduate student of plant protection department, e-mail: konoplev.nd@gmail.com

Popov Sergei Yakovlevich. Head of plant protection department, DSc in Biology, professor, e-mail: sergei\_ya\_popov@timacad.ru

“Phytoengineering” R&D Center, 141880, Russia, Moscow Region, Dmitrov district, Rogachevo, Moskovskaya street, 58.

Ignatov Alexander Nikolaevich. Deputy general director, DSc in Biology, professor, e-mail: an.ignatov@gmail.com

\* Ответственный за переписку

\* Responsible for correspondence