

ISSN 1999-9127

Государственное научное учреждение
**«ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ И ЦИТОЛОГИИ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ»**

МОЛЕКУЛЯРНАЯ И ПРИКЛАДНАЯ ГЕНЕТИКА

**СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ
ТОМ 21**

Издается с 2005 года
Выходит два раза в год

Минск
2016

УДК [577.21 + 575] (082)

Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. / Институт генетики и цитологии НАН Беларуси; редколл.: А.В. Кильчевский (гл. ред.) [и др.]. – Минск: Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 2016. – Т. 21. – 116 с. – ISSN 1999-9127.

В сборнике научных трудов публикуются обзорные и экспериментальные статьи в области молекулярной и прикладной генетики растений, микроорганизмов, животных, человека, отражающие исследования генетических процессов на молекулярном, клеточном, организменном и популяционном уровнях. Особое внимание уделяется наиболее актуальным проблемам геномики, генетической и клеточной инженерии. Публикуются результаты изучения генетических основ селекции растений, животных и микроорганизмов, разработки эффективных биотехнологий для сельского хозяйства, здравоохранения, охраны окружающей среды, биобезопасности.

Сборник предназначен для специалистов, работающих в области генетики, преподавателей, аспирантов и студентов ВУЗов биологического, сельскохозяйственного и медицинского профиля.

Редакционная коллегия:

А.В. Кильчевский – главный редактор, Л.В. Хотылева – зам. главного редактора;
К.У. Вильчук, С.И. Гриб, О.Г. Давыденко, А.Н. Евтушенков, А.П. Ермишин,
А.И. Ковалевич, Ф.И. Привалов, А.В. Сукало, В.А. Лемеш, С.А. Лихачев,
Н.П. Максимова, С.Б. Мельнов, М.Е. Михайлова, И.Б. Моссэ, М.Е. Никифоров,
В.Е. Падутов, В.Н. Решетников, Е.А. Сычева, Н.И. Дубовец, В.В. Титок, И.П. Шейко,
О.Н. Харкевич – члены редколлегии;
И.В. Широкая – ответственный секретарь.

УДК [577.21 + 575] (082)

ISSN 1999-9127

Институт генетики
и цитологии НАН Беларуси, 2016

СОДЕРЖАНИЕ

<i>А.В. Кильчевский, Л.В. Хотылева, В.А. Лемеш, Т.Д. Кужир, Е.А. Сычева</i> Белорусское общество генетиков и селекционеров: прошлое, настоящее и будущее (к 50-летию) (обзорная статья).....	5
<i>О.Г. Бабак, С.В. Кубрак, Н.А. Некрашевич, Т.В. Никитинская, М.Р. Халилуев, Е.К. Шематорова, Г.В. Шпаковский, А.В. Кильчевский</i> Изучение особенностей роста и развития трансгенных растений томата (<i>Solanum lycopersicum</i> L.), несущих кДНК гена <i>CYP11A1</i> животного происхождения.....	15
<i>В.А. Лемеш, Е.В. Гузенко, Е.В. Железнякова</i> Генетический полиморфизм линий «ложных трансформантов» льна-долгунца (<i>Linum usitatissimum</i> L.)	23
<i>О.А. Орловская, С.И. Вакула, Л.В. Хотылева, А.В. Кильчевский</i> Анализ содержания запасных углеводов в эндосперме образцов различных подвидов кукурузы (<i>Zea mays</i> L.).....	31
<i>И.С. Гордей</i> Структурные изменения генома ржи при зиготической дупликации.....	37
<i>Е.Н. Сысолятин, Н.В. Анисимова, О.Г. Бабак, А.В. Кильчевский</i> Оценка эффективности метода SRAP-RGA-ПЦР для генотипирования узколистного люпина... 46	46
<i>О.В. Евдокимова, В.Е. Мямин, Л.Н. Валентович</i> Идентификация бактерий <i>Vacillus pumilus</i> с помощью видоспецифичной ПЦР	53
<i>Н.В. Воронова, М.М. Воробьева, Д.Г. Жоров, С.В. Буга</i> Применимость метода ПЦР-ПДРФ-анализа баркодинг-региона <i>COI</i> для идентификации инвазивных видов насекомых в фауне Беларуси (на примере тлей рода <i>Aphis</i> L.)	64
<i>Е.А. Аксенова, А.П. Сильванович, А.В. Михайловская, Н.Г. Даниленко</i> Особенности распределения частот полиморфных аллелей гена рецептора витамина D в популяциях этнических белорусов	71
<i>П.М. Морозик, М.Д. Амельянович, К.В. Жур, Е.В. Нестеренко, П.В. Евлеев, И.Б. Моссэ</i> Анализ генетической предрасположенности к костным переломам у спортсменов	81
<i>А.С. Кондратенко, А.И. Макаревич</i> МикроРНК-ассоциированные аспекты шизофрении. Популяционные частоты локуса rs1625579 гена <i>MIR137</i> среди коренных жителей Беларуси.....	89
<i>З.И. Бисултанова, З.Р. Бисултанова, П.М. Джамбетова</i> Анализ полиморфных вариантов генов эксцизионной репарации у женщин с раком молочной железы в чеченской популяции	99
<i>И.Э. Рубель, О.Ю. Баранов, С.В. Пантелеев, О.А. Разумова, В.А. Гуцин, В.В. Макаров</i> Изучение вирусоподобных элементов в геноме хвойных на основании данных высокопроизводительного секвенирования (краткое сообщение).....	107
Правила оформления статьи.....	113

CONTENTS

<i>A.V. Kilchevsky, L.V. Khotyleva, V.A. Lemesh, T.D. Kuzhir, E.A. Sycheva</i> Belarusian Society of Geneticists and Breeders: Past, Present and Future (by 50 th Anniversary) (a Review Article).....	5
<i>O.G. Babak, S.V. Kubrak, N.A. Nekrashevich, T.V. Nikitinskaya, M.R. Khaliluev, E.K. Shematorova, G.V. Shpakovski, A.V. Kilchevsky</i> Study of Growth and Development of Transgenic Tomato Plants (<i>Solanum lycopersicum</i> L.) Carrying Animal Gene <i>CYP11A1</i> cDNA.....	15
<i>V.A. Lemesh, E.V. Guzenko, E.V. Zheleznyakova</i> Genetic Polymorphism of Flax (<i>Linum usitatissimum</i> L.) “Escapes” Lines.....	23
<i>O.A. Orlovskaya, S.I. Vakula, L.V. Khotyleva, A.V. Kilchevsky</i> Analysis of the Reserve Carbohydrate Content in the Endosperm of Different Maize Subspecies (<i>Zea mays</i> L.).....	31
<i>I.S. Gordej</i> Structural Changes of Rye Genome after Zygotic Duplication.....	37
<i>E.N. Sysoliatin, N.V. Anisimova, O.G. Babak, A.V. Kilchevsky</i> Estimation of SRAP-RGA PCR Method Effectiveness for Genotyping Narrow-Leaved Lupin.....	46
<i>O.V. Yeudakimava, V.E. Miamin, L.N. Valentovich</i> Identification of <i>Bacillus pumilus</i> Bacteria by Using Species-Specific PCR Assay.....	53
<i>N.V. Voronova, M.M. Varabyova, D.G. Zhorov, S.V. Buga</i> Applicability of PCR-RFLP Keys Based on <i>COI</i> Barcode Region for the Identification of Invasive Species in the Insect Fauna of Belarus (on Example of Aphids of Genus <i>Aphis</i> L.).....	64
<i>E.A. Aksyonova, A.P. Silvanovich, A.V. Mihailovskaya, N.G. Danilenko</i> Peculiarities of <i>VDR</i> Gene Polymorphic Allele Frequencies in Populations of Native Belarusians.....	71
<i>P.M. Marozik, M.D. Ameliyanovich, K.V. Zhur, K.V. Nestsiarenka, P.V. Yeuleyeu, I.B. Mosse</i> Analysis of Genetic Predisposition to Athletes’ Bone Fractures.....	81
<i>H.S. Kandratsenka, A.I. Makarevich</i> MiRNA-associated Aspects of Schizophrenia. Frequencies of Rs1625579 Polymorphism of <i>MIR137</i> Gene in the Population of Indigenous People of Belarus.....	89
<i>Z.I. Bisultanova, Z.R. Bisultanova, P.M. Dzhambetova</i> Analysis of Polymorphic Variants of Genes Excision Repair of Women with Breast Cancer in the Chechen Population.....	99
<i>I.E. Rubel', O.Yu. Baranov, S.V. Panteleev, O.A. Razumova, V.A. Gushchin, V.V. Makarov</i> Research of the Virus-Like Elements in the Genome of Conifers Based on the Next-Generation Sequencing Data (Short Report).....	107
Instructions to Authors.....	113

Н.В. Воронова, М.М. Воробьева, Д.Г. Жоров, С.В. Буга

ПРИМЕНИМОСТЬ МЕТОДА ПЦР-ПДРФ-АНАЛИЗА БАРКОДИНГ-РЕГИОНА *COI* ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ИНВАЗИВНЫХ ВИДОВ НАСЕКОМЫХ В ФАУНЕ БЕЛАРУСИ (НА ПРИМЕРЕ ТЛЕЙ РОДА *APHIS* L.)

Белорусский государственный университет
Беларусь, 220030, г. Минск, пр-т Независимости, 4

На основе нуклеотидных последовательностей баркодинг-региона *COI* разработаны ПЦР-ПДРФ-ключи для идентификации тлей *A. pomi* / *A. spiraecola* фауны Беларуси, собранных с разных кормовых растений. Был уточнен перечень кормовых растений *A. pomi* / *A. spiraecola* в условиях Беларуси.

Ключевые слова: тли, идентификация видов, баркод-регион, рестрикционные карты, *Aphis pomi*, *Aphis spiraecola*

Введение

Корректная идентификация таксономической принадлежности биологических образцов в ряде случаев может иметь принципиальное значение. Видовая диагностика, т.е. достоверное отнесение объекта к тому или иному биологическому виду, линии или биотипу, играет ключевую роль при обеспечении внешнего карантина или мониторинге распространения и численности чужеродных для фауны и флоры видов вредителей или переносчиков заболеваний человека, животных и растений. В Европе особенное значение имеет мониторинг видов-инвайдеров, поскольку в последние годы наблюдается расширение их числа, рост экономического и экологического ущерба от их внедрения как в естественные, так и в культурфитоценозы [1–3].

Инвазивные виды, как правило, приводят к появлению специфических угроз для сложившихся на этой территории сообществ живых организмов [4]. В случае с насекомыми-фитофагами, расселение которых чаще всего происходит с интродукцией их кормовых растений, – это риск их перехода на другие виды растений, которые произрастают или возделываются на новой для инвайдера территории и могут оказаться пригодными для его питания. Заселение инвайдерами аборигенных растений часто сопровождается эскалацией численности вредителя, что обусловлено как отсутствием давления внутривидовой конкуренции,

так и слабым прессом со стороны хищников и патогенов [5, 6]. По этой причине распространение инвайдеров требует особого внимания со стороны исследователей.

В случае, когда морфологические ключи не предоставляют достаточной информации, как это часто бывает с сестринскими видами или при развитии внутривидовом полиморфизме, наиболее точным методом для определения таксономической принадлежности насекомых признана ДНК-идентификация. Как известно, под термином «ДНК-идентификация» понимают целую группу методов и подходов, объединенных принципом использования маркерных последовательностей ДНК в качестве основы для создания того или иного рода идентификационных ключей. Наиболее известными среди методов ДНК-идентификации видов, вероятнее всего, являются ДНК-штрихкодирование (ДНК-баркодинг) и идентификация по результатам фрагментного анализа микросателлитных повторов [7–9]. Оба метода при должном выборе объекта и задач исследования демонстрируют высокую достоверность и разрешающую способность. Сложностями, ограничивающими широту их применения, особенно для решения рутинных задач, являются дороговизна реактивов, трудоемкость и необходимость наличия некоторого дорогостоящего оборудования (в частности, секвенатора). По этой причине мы предложили иной, гораз-

до более дешевый и простой в исполнении метод идентификации видов, основанный на использовании ПЦР-ПДРФ-ключей, который хорошо зарекомендовал себя в работах, связанных с установлением видовой принадлежности у рыб, и который мы также рекомендовали использовать для идентификации видов тлей. В предыдущей работе [10] мы подробно обсуждали преимущества использования этого метода для рутинной таксономии. В настоящей статье мы проанализировали возможность использования для создания ПЦР-ПДРФ-ключей иного молекулярного маркера – гена субъединицы 1 цитохромоксидазы *c* (*COI*), а точнее, так называемого, баркод-региона – участка гена длиной около 750 п.н. в 5'-области. Такой выбор продиктован несколькими причинами: во-первых, будучи митохондриальным, ген *COI* не имеет аллелей в геноме и интронов в структуре, что существенно снижает вероятность ложноположительных или ложноотрицательных результатов в процессе диагностики; во-вторых, последовательность гена *COI* у тлей чрезвычайно консервативна, и число гаплотипов, выявляемых у одного вида, редко достигает десяти [11, 12], что также повышает достоверность результатов, получаемых методом ПЦР-ПДРФ; в-третьих, существует несколько пар известных универсальных праймеров, позволяющих амплифицировать баркод-регион гена *COI* у тлей [13, 14]; и, в-четвертых, благодаря глобальному развертыванию проекта по ДНК-штрихкодированию жизни [15], последовательности баркод-региона многих видов тлей уже сегодня могут быть найдены в глобальной базе данных нуклеотидных последовательностей BOLD (1147 видов по состоянию на 2016 г.), что позволяет получать данные о внутривидовой вариабельности целевого участка генома и использовать эти данные для построения идентификационных ПЦР-ПДРФ-таблиц.

В качестве моделей для исследования применимости предлагаемого подхода для идентификации видов у тлей мы использовали несколько видов рода *Aphis* L., широко распространенных в Беларуси и, в ряде случаев, вызывающих затруднения при идентификации этих насекомых по морфологическим признакам. В частности, мы рассмотрели пару морфологически сход-

ных видов: *Aphis pomi* de Geer, 1773 и *Aphis spiraeicola* Patch, 1914. В Беларуси *A. pomi* принадлежит к числу основных вредителей семечковых плодово-ягодных культур (особенно в питомниках), тогда как *A. spiraeicola* является опасным вредителем и переносчиком возбудителей вирусных заболеваний многих плодовых культур в регионах с субтропическим климатом, который в настоящее время осуществляет активную экспансию на север [16]. В условиях Центральной Восточной Европы *A. spiraeicola* повреждает целый круг плодово-ягодных и декоративных культур [17]. Учитывая высокое морфологическое сходство этих насекомых, появление недорогих молекулярных ключей для их идентификации было бы крайне желательным. Мы не включили в анализ еще один инвазивный вид рода *Aphis*, развивающийся в Беларуси на спирее, – *Aphis spiraeophaga* Müller, 1961, поскольку он может быть уверенно дифференцирован по морфологическим признакам [18].

Материалы и методы

Образцы тлей указанных видов были собраны в 2013–2015 гг. на территории Беларуси со спиреи (*Spiraea* sp.), боярышников (*Crataegus* sp.), кизильника блестящего (*Cotoneaster lucidus* Schltdl., яблонь (*Malus* sp.), груши (*Pyrus communis* L.), айвы японской (*Chaenomeles japonica* (Thunb.) Lindl. ex Spach), ирги (*Amelanchier* spp.). Всего для проверки гипотезы о возможности идентификации тлей *A. pomi* и *A. spiraeicola* методом ПЦР-ПДРФ было отобрано по одной особи из 44 колоний тлей.

Для выделения ДНК тлей коллектировали в 96%-ный этанол и хранили в морозильной камере при температуре –20 °С. ДНК выделяли из единичных насекомых, используя коммерческий набор DNA purification Kit (Thermo scientific), модифицировав методику производителя с учетом малого объема биоматериала и плотности покровов насекомого.

Фрагмент гена *COI*, соответствующий баркод-региону, получили в результате ПЦР с широко применяемыми универсальными праймерами LepF/LepR (АТТСААССААТ-САТАААГАТАТТGG / ТАААСТТСТGGAT-GTССАААААТСА), используя стандартный для этих праймеров протокол [19] и Taq-полимеразу (Thermo scientific). Качество и ко-

личество ПЦР-продукта оценивали визуально в 1,5%-ном агарозном геле с использованием в качестве маркера молекулярного веса 1 Kb DNA-Ladder (Thermo scientific). Учитывая, что ген *COI* не имеет вариабельных по длине участков, положительным считали результат, при котором на электрофореграмме обнаруживался один четкий фрагмент ДНК длиной 707 п.н.

Последовательности *COI* *A. pomii* и *A. spiraeicola* получили из базы данных BOLD (www.barcodinglife.com). Всего было проанализировано 138 последовательностей *A. pomii* (Европа, Северная Америка, Азия и Австралия) и 227 последовательностей *A. spiraeicola* (Северная Америка, Африка, Азия, Австралия и Южная Америка).

Поиск сайтов рестрикции в последовательностях *COI* тлей исследуемых видов осуществили в программе BioEdit [20]. Выбор альтернатив и создание идентификационных таблиц провели вручную по результатам анализа построенных рестрикционных карт. При наличии внутривидовых гаплотипов *COI*, различающихся рестрикционными картами, все ферменты рестрикции, применение которых могло бы привести к получению вариативных результатов, исключали из идентификационных таблиц.

В качестве субстрата для выбранного фермента рестрикции использовали неочищенный продукт ПЦР. Рестрикцию проводили в строгом соответствии с протоколом производителя (BamHI (Thermo scientific)) в течение 3 ч. Результат рестрикции оценивали электрофоретически в 2,5%-ном агарозном геле, сравнением полученных фрагментов с маркером молекуляр-

ного веса, а также с исходным ПЦР-продуктом, который выступал в качестве внутреннего контроля длины анализируемого фрагмента.

Результаты и обсуждение

Для построения рестрикционных карт мы использовали информацию о сайтах узнавания всех ферментов рестрикции и их изошизомеров, доступных в соответствующих базах данных коммерческих продуктов [21]. Оказалось, что всего в последовательностях *A. pomii* и *A. spiraeicola* обнаруживаются сайты рестрикции для 44 рестриктаз, однако большинство из них совпадали. После сравнительного анализа рестрикционных карт нам удалось выбрать 11 ферментов для *A. pomii* и 8 – для *A. spiraeicola*, которые не имели сайтов узнавания в последовательностях второго вида, с которым необходимо проводить дифференциацию (рис. 1).

По нашему мнению, для альтернативной идентификации образцов *A. pomii* / *A. spiraeicola* можно использовать любую пару рестриктаз из числа приведенных в табл. 1, при этом ферменты рестрикции должны быть выбраны таким образом, чтобы каждая имела сайт узнавания в последовательности лишь одного вида. Несложно рассчитать, что суммарное число возможных парных комбинаций равно 88.

Мы оценили эффективность использования предлагаемого подхода на практике, и установили видовую принадлежность некоторых образцов *A. pomii* / *A. spiraeicola*, коллектированных в Беларуси с разных кормовых растений, идентификацию которых методом морфометрического анализа [22] провести не удалось.

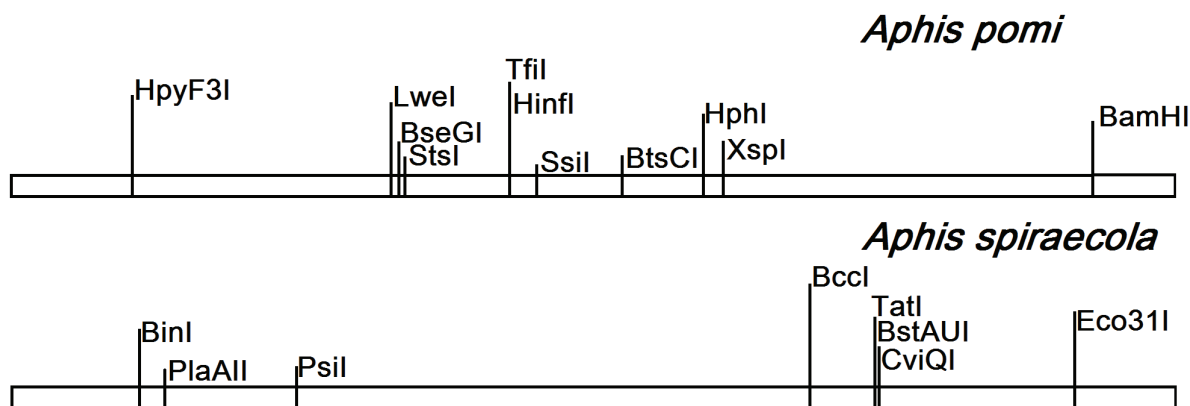


Рис. 1. Рестрикционные карты фрагмента *COI*, содержащие информацию о наличии сайтов рестрикции для набора рестрикционных ферментов, позволяющих провести альтернативную идентификацию видов *A. pomii* / *A. spiraeicola*

Таблица 1

Идентификационная ПЦР-ПДРФ-таблица для диагностики *A. pomi* / *A. spiraecola*, построенная на основе анализа баркод-региона *COI*

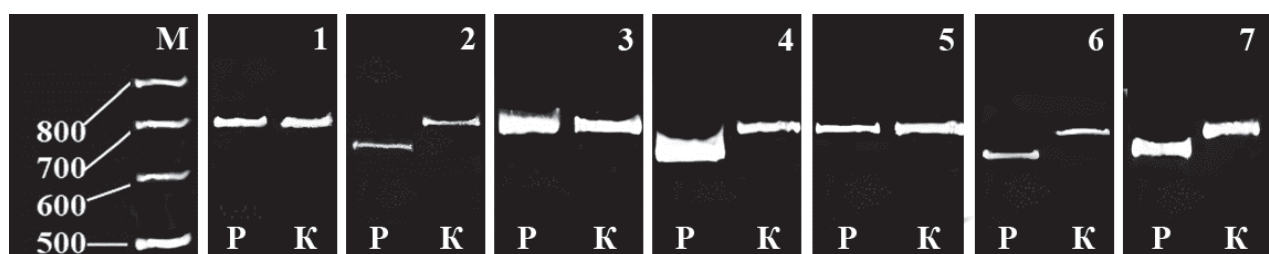
Название фермента рестрикции	Сайт узнавания фермента рестрикции	Вид тли и длина образующихся фрагментов	
		<i>Aphis pomi</i>	<i>Aphis spiraecola</i>
BamHI	G/GATCC	52 + 655	—*
BseGI	GGATG (2/0)	245 + 462	—
BtsCI	GGATG(2/0)	351 + 356	—
HinfI	G/ANTC	279 + 428	—
HphI	GGTGA(8/7)	288 + 419	—
HpyF3I	C/TNAG	74 + 633	—
Lwel	GCATC(5/9)	230 + 477	—
SsiI	CCGC(-3/-1)	293 + 414	—
StsI	GGATG	253 + 454	—
TfiI	G/AWTC	279 + 428	—
XspI	C/TAG	276 + 431	—
BccI	CCATC (4/5)	—	284 + 423
BinI	GGATC (4/5)	—	74 + 633
BstAUI	T/GTACA	—	233 + 474
CviQI	G/TAC	—	234 + 475
Eco31I	GGTCTC(1/5)	—	58 + 649
PlaAII	GT/AC	—	89 + 618
PsiI	TTA/TAA	—	171 + 536
TatI	W/GTACW	—	233 + 474

*(-) – сайт узнавания данной рестриктазы в последовательности отсутствует

После проведения ПЦР и последующей обработки ПЦР-фрагментов рестриктазой BamHI, «отрезающей» от ПЦР-продукта минимальный, в сравнении с другими предлагаемыми ферментами рестрикции, фрагмент (52 п.н.), оказалось, что различия в длине фрагментов ДНК после проведения рестрикции

хорошо визуализируются в электрофорезном геле и результаты идентификации полностью однозначны (рис. 2).

В результате мы обнаружили, что в исследованных нами сборах *A. pomi* / *A. spiraecola* представленность обоих видов примерно одинакова (табл. 2).



1 – тли, собранные с *Chaenomeles japonica*; 2 – тли, собранные с *Malus* sp.; 3 – тли, собранные со *Spiraea* sp.; 4 – тли, собранные с *Crataegus* sp.; 5 – тли, собранные с *Cotoneaster lucidus*; 6 – тли, собранные со *Spiraea* sp.; 7 – тли, собранные с *Malus* sp.; М – маркер молекулярного веса; Р – фрагмент, обработанный рестриктазой BamHI; К – фрагмент, не обработанный рестриктазой

Рис. 2. Электрофореграммы результатов ПЦР-ПДРФ-анализа, проведенного для идентификации видов *A. pomi* / *A. spiraecola* в сборах тлей с разных кормовых растений (пример)

Таблица 2

Результаты ПЦР-ПДРФ-диагностики видов тлей в образцах, собранных с разных кормовых растений (с использованием рестриктазы *VamHI*)

Кормовое растение	Результаты идентификации тлей	
	<i>Aphis pomi</i>	<i>Aphis spiraecola</i>
<i>Spiraea</i> sp.	1	12
<i>Crataegus</i> sp.	6	3
<i>Cotoneaster lucidus</i>	8	3
<i>Malus</i> sp.	4	0
<i>Pyrus communis</i>	2	0
<i>Chaenomeles japonica</i>	0	3
<i>Amelanchier</i> sp.	0	2
Суммарное количество для всех растений	21	23

При оценке встречаемости *A. pomi* и *A. spiraecola* на конкретных кормовых растениях с уверенностью можно заключить, что только на спиреях преобладают *A. spiraecola*. В остальных случаях, учитывая ограниченный размер выборки, обоснованных заключений о преимущественной связи каждого (или какого-то одного) вида тлей с конкретным кормовым растением сделать нельзя.

Заключение

Оценка применимости и эффективности метода ПЦР-ПДРФ для идентификации тлей рода *Aphis* L. на яблонях, спиреях и других кормовых растениях, на которых в Беларуси регистрируются *A. pomi* / *A. spiraecola*, показала, что последовательность *COI* (баркод-регион) этих видов тлей обладает достаточной консервативностью на внутривидовом и вариабельностью на межвидовом уровнях, чтобы можно было разработать ПЦР-ПДРФ-ключи для идентификации этих двух видов.

На основе предлагаемого нами списка рестрикционных ферментов можно составить 88 ПДРФ-ключей, позволяющих идентифицировать виды *A. pomi* и *A. spiraecola* по альтернативному принципу.

С использованием предлагаемого подхода и произвольно выбранного из числа возможных ключа мы оценили встречаемость *A. pomi* / *A. spiraecola* в Беларуси на нескольких кормовых растениях, причем оказалось, что на спиреях почти исключительно преобладают *A. spiraecola*.

Авторы выражают искреннюю благодарность заведующему кафедрой микробиологии БГУ, профессору, д.б.н. В.А. Прокулевичу за помощь в получении результатов.

Исследования выполнены при частичной финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Б15-063), а также гранта Министерства образования Республики Беларусь на выполнение НИР аспирантами и авторскими коллективами студентов на 2016 г.

Список использованных источников

1. Complex patterns of global spread in invasive insects: eco-evolutionary and management consequences / J.R. Garnas [et al.] // *Biological Invasions*. – 2016. – Vol. 18, N. 4. – P. 935–952.
2. Genetic Diversity and Structure of Brazilian Populations of *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae): Implications for Pest Management / K.L. Silva-Brandá [et al.] // *Journal of Economic Entomology*. – 2015. – Vol. 108, N. 1. – P. 307–316.
3. Global Invasive Species Programme (GISP), 1999 [Electronic resource]. – Mode of access: <http://jasper.stanford.edu/gips/>. – Date of access: 01.10.2016.
4. Воробьева, М.М. Предварительные результаты изучения уровня генетического сходства инвазивных и аборигенных популяций алычовой тли (*Brachycaudus divaricatae* Shar., 1956) / М.М. Воробьева, Н.В. Воронова, С.В. Буга // *Вестник БГУ. Серия 2*. – 2015. – № 3. – С. 49–55.

5. Harizanova, V. Preliminary study on the invasive *Acizzia jamatonica* (Hemiptera: Psyllidae) and its predators in Bulgaria / V. Harizanova, A. Stoeva, M. Mohamedova // Agricultural Science and Thechnology. – 2012. – Vol. 4 (1). – P. 56–61.
6. *Epuraea imperialis* (Reitter, 1877) new invasive species of nitidulidae (Coleoptera) in Europe, with a checklist of sap beetles introduced to Europe and Mediterranean areas / J. Jelinek [et al.] // Atti della Accademia Peloritana dei Pericolanti. – 2016. – Vol. 94 (2). – P. 1–24.
7. Biological indentifications through DNA barcodes / P.D.N. Hebert [et al.] // Proc. R. Soc. Lond. B. – 2003. – Vol. 270. – P. 313–321.
8. 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 / I. Valenzuela [et al.] // Australian Journal of Entomology. – 2007. – Vol. 46. – P. 305–312.
9. Identification of the population structure of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) on peach trees in China using microsatellites / J. Li [et al.] // Journal of Insect Science. – 2015. – Vol. 15, N. 1. – P. 2–9.
10. Воронова, Н.В. Разработка ПЦР-ПДРФ таблиц на основе последовательности гена *EF1a* для идентификации видов тлей – вредителей сельскохозяйственных растений / Н.В. Воронова, В.И. Головенчик // Молекулярная и прикладная генетика: сб. науч. тр. – Минск: Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, 2015. – Т. 19. – С. 100–109.
11. Воробьева, М.М. Генетическая структура вида *Macrosiphum gei* Koch, 1855 в Беларуси / М.М. Воробьева, П.К. Супранович, Н.В. Воронова // Факторы экспериментальной эволюции: материалы XI Междунар. научно-практич. конф., 12–16 сент. 2016 г. / Одесский национальный ун-т им. И.И. Мечникова (ОНУ). – Одесса, 2016. – С. 36–41.
12. Воробьева, М.М. Генетическая вариабельность аборигенных и инвазивных видов тлей родов *Macrosiphum* Pass. и *Brachycaudus* van der Goot / М.М. Воробьева, П.К. Супранович, Н.В. Воронова // Труды БГУ. – 2014. – Т. 8, Ч. 2. – С. 135–142.
13. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes / R.G. Footitt [et al.] // Molecular ecology resources. – 2008. – Vol. 8, N. 6. – P. 1189–1201.
14. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates / O. Folmer [et al.] // Molecular Biology and Biotechnology. – 1994. – Vol. 3, N. 5. – P. 294–299.
15. DNA barcoding and the associated PhylAphidB@se website for the identification of European aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) / A. Coeur d'Acier [et al.] // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9, N. 6. – P. 1–16.
16. Blackman, R.L. Aphids of the world trees. An identification and information guide / R.L. Blackman, V.F. Eastop. – London: CAB International, 1994. – 1024 p.
17. Holman, J. Host plant catalog of aphids. Palaearctic region / J. Holman. – Berlin: Springer Science, 2009. – 1216 p.
18. Горленко, С.В. Устойчивость древесных интродуцентов к биотическим факторам / С.В. Горленко, А.И. Блинцов, Н.А. Панько. – Минск: Наука и техника, 1988. – 189 с.
19. DNA barcodes distinguish species of tropical *Lepidoptera* / M. Hajibabaei [et al.] // PNAS. – 2006. – Vol. 103. – P. 968–971.
20. 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. – N. 91. – P. 95–98.
21. Roberts, J.R. Restriction enzymes and their isoschizomers / J.R. Roberts // Nucleic Acids Research. – 1988. – Vol. 16. – P. 271–313.
22. Жоров, Д.Г. Проблема морфометрической идентификации зеленых тлей рода *Aphis* L., повреждающих деревья и кустарники семейства Rosaceae в зеленых насаждениях Беларуси / Д.Г. Жоров // Вестник БГУ. Серия 2. – 2016. – № 2. – С. 67–74.

N.V. Voronova, M.M. Varabyova, D.G. Zhorov, S.V. Buga

APPLICABILITY OF PCR-RFLP KEYS BASED ON *COI* BARCODE REGION FOR THE IDENTIFICATION OF INVASIVE SPECIES IN THE INSECT FAUNA OF BELARUS (ON EXAMPLE OF APHIDS OF GENUS *APHIS* L.)

Belarusian State University
Belarus, 220030, Minsk

PCR-RFLP keys based on *COI* barcode region for the identification of *A. pomi* / *A. spiraeicola* samples collected from different host-plants in Belarus were developed. The list of *A. pomi* / *A. spiraeicola* fodder plants in the Belarusian conditions has been updated.

Key words: aphids, species identification, barcode region, restriction map, *Aphis pomi*, *Aphis spiraeicola*

Дата поступления статьи 10 октября 2016 г.