



ЗООЛОГИЧЕСКИЕ ЧТЕНИЯ

Сборник статей
международной научно-
практической конференции,
посвященной памяти профессора

КОНСТАНТИНА
МИХАЙЛОВИЧА
ЕЛЬСКОГО

15 – 17 марта 2017 года

Гродно



УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГРОДНЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ЯНКИ КУПАЛЫ»
ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЕ ОБЪЕДИНЕНИЕ
«НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР НАН БЕЛАРУСИ ПО БИОРЕСУРСАМ»
ОБЩЕСТВЕННАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ «АХОВА ПТУШАК БАЦЬКАЎШЧЫНЫ»
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ГРОДНЕНСКИЙ ОБЛАСТНОЙ КОМИТЕТ ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
ТУЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ПЕДАГОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Л. Н. ТОЛСТОГО
INSTYTUT BIOLOGII I OCHRONY ŚRODOWISKA AKADEMII POMORSKIEJ W SŁUPSKU
UNIwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

ЗООЛОГИЧЕСКИЕ ЧТЕНИЯ

Сборник статей
международной научно-практической конференции,
посвященной памяти профессора
КОНСТАНТИНА МИХАЙЛОВИЧА ЕЛЬСКОГО

(Гродно, 15 – 17 марта 2017 года)

Гродно
ГрГУ им. Я. Купалы
2017

УДК 574
ББК 28.088
3 85

Редакционная коллегия:
О. В. Янчуревич (отв. ред.), А. В. Рыжая, В. Н. Бурдь

3–85

Зоологические чтения – 2017: Сборник статей Международной научно-практической конференции (Гродно, 15–17 марта 2017 г.) / О. В. Янчуревич (отв. ред.) [и др.]. – Гродно : ГрГУ, 2017. – 248 с.
ISBN 978-985-6612-1418-06

Статьи ученых из Беларуси, России, Польши, Молдовы, Латвии, Казахстана посвящены современным аспектам фаунистических исследований, мониторинга и кадастра животного мира, сохранению биоразнообразия, рационального использования и охране ресурсов животного мира, актуальным проблемам аутэкологии животных в условиях роста антропогенного влияния и глобальных изменений среды обитания, совершенствованию научно-методических подходов к оценке популяций и качества среды обитания животных, инновациям и достижениям в преподавании зоологических дисциплин в средней и высшей школе. Адресуется всем интересующимся перечисленными проблемами.

УДК 574
ББК 28.088

© УО «ГрГУ», 2017

УДК 577.212:595.753

М. М. Воробьева, Н. В. Воронова

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА ПЦР-ПДРФ АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
ПОДВИДОВ У ТЛЕЙ НА ПРИМЕРЕ *APHIS FABAE* SCOPOLI, 1763 И
MYZUS CERASI (FABRICIUS, 1775)**

Число видов равнокрылых (хоботных) насекомых, регистрируемых на территории Республики Беларусь, в настоящее время превышает 1000 [1]. Среди них особого внимания заслуживают настоящие тли (Aphidoidea), освоившие в качестве кормовых объектов подавляющее большинство видов растений. Как известно, большая часть видов тлей тесно ассоциирована с одним или несколькими кормовыми растениями, принадлежащими к одному либо нескольким близким семействам [2]. Существуют, однако, виды тлей,

способные питаться на колоссальном числе видов растений, принадлежащих к разным семействам, в том числе, таксономически удаленным. В последние десятилетия наметилась тенденция выделения внутри таких видов форм более низкого ранга либо разделения их на комплексы видов, что обусловлено выявлением в природных популяциях внутривидовых более или менее изолированных линий, преимущественно связанных с некоторыми кормовыми растениями из общего широкого спектра [3]. Изучение внутривидовых форм в природе, однако, вызывает значительные затруднения, связанные, прежде всего, с невозможностью их морфологической дифференциации. Более того, сама необходимость разделения многоядных видов на симпатрические комплексы нередко вызывают дискуссии у специалистов [4].

В фауне Беларуси присутствуют виды тлей, которые в настоящее время разделяют на более или менее крупные комплексы, формы внутри имеют совпадающий ареал, но различаются спектром растений-хозяев (как, например, *Myzus cerasi*, *Aphis fabae*, *A. craccivora*, *M. persicae* и др.). Так, например, у *A. fabae* отмечено четыре подвида: *A. fabae fabae*, *A. fabae cirsiacanthoidis*, *A. fabae mordvilkoii* и *A. fabae solanella*. В качестве первичного кормового растения *A. fabae fabae*, *A. fabae cirsiacanthoidis* и *A. fabae solanella* выступает *Euonymus europaeus* L., однако иногда эти тли могут использовать *Viburnum opulus* L. Летом *A. fabae fabae* мигрирует на вторичные кормовые растения, в качестве которых выступает множество различных видов, принадлежащих к семействам Leguminosae, Papaveraceae и Chenopodiaceae. Летние поколения *A. fabae cirsiacanthoidis* развиваются только на *Cirsium arvense* L., а *A. fabae solanella* – на *Solanum nigrum* L., которые не входят в перечень кормовых растений *A. fabae fabae*. Первичным кормовым растением *A. fabae mordvilkoii* является *V. opulus* или *Philadelphus coronarius* L., а в качестве вторичных растений эти тли используют *Arctium spp.* L. и *Tropaeolum majus* L. [5]. *M. cerasi* был разделен на два подвида *M. cerasi cerasi* и *M. cerasi pruniavium* в 1926 г. Börner [6]. В перечень первичных кормовых растений *M. cerasi cerasi* входит *Prunus cerasus* L. и *P. avium* L., а в перечень вторичных – травянистые растения родов *Galium*, *Euphrasia*, *Odontites* и *Veronica*. *M. cerasi pruniavium* ограничивается одним первичным кормовым растением (*P. avium*), однако имеет широкий спектр вторичных кормовых растений (*Plantago*, *Euphrasia* и *Galim*) [7].

Дифференциация всех упомянутых подвигов тлей возможна только по некоторым, специфическим для отдельных подвигов, кормовым растениям, в то время как перечень растений, на которых эти тли могут не только соседствовать, но и образовывать смешанные колонии, достаточно широк. По этой причине изучение структуры комплексов видов тлей в локальных фаунах без привлечения новых методов и подходов для их выявления возможно лишь в крайне ограниченной степени.

Как было показано нами и некоторыми другими исследователями ранее [8], подвиды у тлей обычно различаются генетически, и эти различия могут быть зарегистрированы. По нашему мнению, достаточно точным и сравнительно дешевым методом идентификации морфологически сходных подвигов у тлей является ПЦР-ПДРФ-идентификация. В связи с этим в рамках настоящего исследования мы провели сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена субъединицы 1 цитохром-*c*-оксидазы с целью установления различий между подвидами тлей видов *A. fabae* и *M. cerasi*, и на основании полученных данных построили ПЦР-ПДРФ таблицы, предназначенные для их диагностики.

Материал и методика. В работе использованы ортологичные нуклеотидные последовательности гена субъединицы 1 цитохром-*c*-оксидазы (COI), представленные в международных генетических базах данных BOLD (www.barcodinglife.com), а также собственные сиквенсы, полученные на кафедре зоологии БГУ или в рамках проведения курсов Глобальной таксономической инициативы «Быстрая идентификация инвазивных видов для достижения целевой задачи Айти 9 используя техники и методы ДНК-штрихкодирования» при финансовой поддержке Секретариата Конвенции о биоразнообразии и Фонда биоразнообразия Японии. Всего проанализировали 498 нуклеотидных последовательностей COI тлей длиной 708 п.н., из которых 401 принадлежали *A. fabae* (Канада, Германия, Франция, США, Кения, Пакистан, Греция, Италия, Бразилия, Нидерланды, Великобритания, Болгария, Индия, Россия, Южная Корея, Беларусь,) и 97 – *M. cerasi* (Канада, Франция, США, Германия, Австралия, Новая Зеландия, Австрия, Беларусь).

Множественное выравнивание (MUSCLE) и расчет парных внутривидовых генетических дистанций (метод максимального правдоподобия) провели программе MEGA7. Число и дивергенцию гаплотипов рассчитали в программе DNAsp. Поиск сайтов рестрикции в последовательностях COI анализируемых видов тлей осуществили с использованием программы BioEdit. Для построения рестрикционных карт воспользовались программой pDRAW32 1.1.112. Создание идентификационных таблиц провели вручную по результатам анализа построенных рестрикционных карт.

Результаты и их обсуждение. Анализ литературных данных [9] показал, что в перечень кормовых растений *A. fabae* входит 1433 вида растений, принадлежащих к 108 ботаническим семействам. Как известно, при наличии гаплотипов COI во многих случаях у тлей оказывается, что конкретные гаплотипы в большей или

меньшей степени однозначно соответствуют линиям тлей, ассоциированным с определенными кормовыми растениями [10]. Среди тлей *A. fabae* присутствуют обладатели 5 гаплотипов COI, соответствующие подвидам *A. fabae fabae*, *A. fabae cirsiacanthoidis*, *A. fabae mordvilkoii* и *A. fabae solanella*, в то время как у *M. cerasi* отмечено 2 гаплотипа COI, которые соответствуют подвидам *M. cerasi cerasi*, *M. cerasi pruniavium*. Однако всего в результате нашей работы у *A. fabae* всего был выявлен 21 гаплотип COI, среднее значение дивергенции между которыми составило 0,596. Значения парных внутривидовых генетических дистанций между последовательностями *A. fabae* варьировали от 0,000 до 0,097 со средним значением равным 0,002.

M. cerasi заселяет 109 видов растений, принадлежащих к 14 семействам. У этого вида было отмечено 7 гаплотипов с дивергенцией между ними, равной 0,675. Значения парных внутривидовых генетических дистанций варьировали от 0,000 до 0,020 со средним значением – 0,001.

На основе нуклеотидных последовательностей гена COI *A. fabae* и *M. cerasi* были построены рестрикционные карты, представленные на рисунке 1.

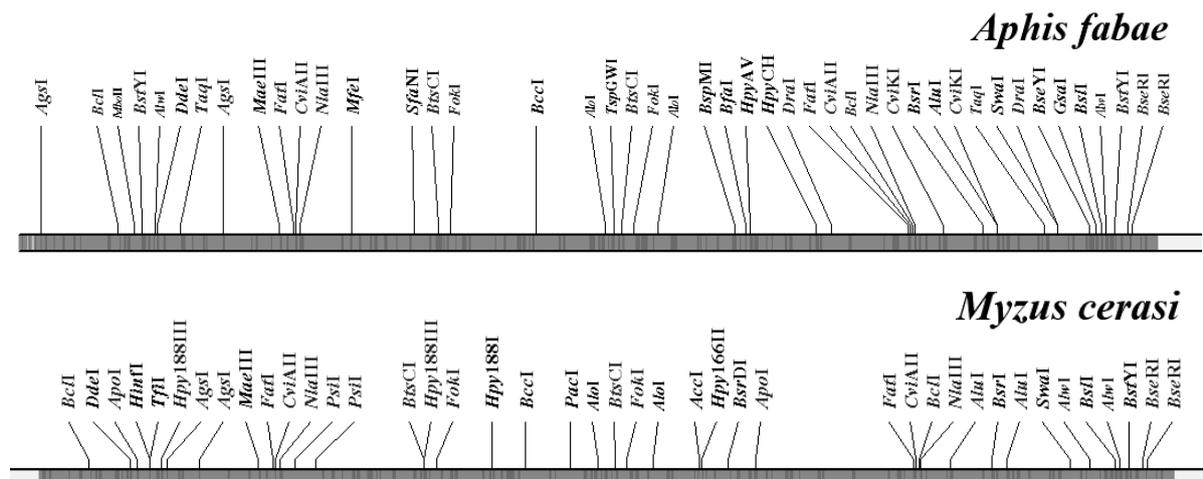


Рисунок 1 – Рестрикционные карты фрагмента COI тлей *A. fabae* и *M. cerasi* (с учетом всех подвидов), содержащие информацию о наличии сайтов узнавания для ферментов рестрикции

В последовательностях гена COI анализируемых видов отмечены сайты рестрикции 35 различных ферментов рестрикции у *A. fabae* и 38 различных рестриктаз – в последовательностях *M. cerasi*. В таблице 1 представлен перечень рестриктаз, которые могут быть использованы для идентификации подвидов у тлей *A. fabae* и *M. cerasi*.

Мы обнаружили, что для диагностики подвидов тлей *A. fabae* можно использовать только две рестриктазы, одна из которых (HinPI) имеет сайт узнавания только в последовательности *A. fabae fabae*, а вторая (PstI) – в последовательностях четырех видов, а именно *A. fabae fabae*, *A. fabae cirsiacanthoidis*, *A. fabae mordvilkoii*, *A. fabae philadelphia*. Кроме того, было найдено пять рестриктаз для идентификации подвидов тлей *M. cerasi*: две среди них (HinPI, TfiI) имеют сайт узнавания только в последовательности *M. cerasi cerasi*, а остальные (AclI, BstU, FauI) только последовательности *M. cerasi pruniavium*. Выявленные рестриктазы позволяют со 100 % точностью идентифицировать труднодифференцируемые по морфологическим признакам подвиды *A. fabae fabae*, *A. fabae solanella*, *M. cerasi cerasi* и *M. cerasi pruniavium*, представляющие собой на сегодняшний день серьезную угрозу для хозяйственно-ценных культур.

Таким образом, в рамках данного исследования мы оценили эффективность использования метода ПЦР-ПДРФ-идентификации для диагностики подвидов у многолетних видов тлей *A. fabae* и *M. cerasi*. Проведенная работа свидетельствует о том, что метод ПЦР-ПДРФ-анализа может быть использован для изучения подвидов *M. cerasi cerasi* и *M. cerasi pruniavium*, а также для диагностики двух подвидов, принадлежащих к комплексу *A. fabae* (*A. fabae fabae* и *A. fabae solanella*).

Благодарности. Авторы выражают огромную признательность заведующему кафедрой зоологии БГУ, доктору биологических наук, профессору Сергею Владимировичу Буге, а также кандидату биологических наук ГНПО НПЦНАН Беларуси Татьяне Петровне Липинской за участие в получении результатов.

Таблица 1 – Идентификационная ПЦР-ПДРФ таблица для диагностики подвидов у тлей *A. fabae* и *M. cerasi*, построенная на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена COI

Фермент рестрикции	Известные изошизомеры	Сайт узнавания фермента рестрикции	Комплекс видов (подвидов)	Подвид	Длина образующихся фрагментов
HinPII	HhaI, FspI, MspI	G [^] CGC	<i>A. fabae</i>	<i>A. fabae fabae</i>	313 + 395
				<i>A. fabae cirsiacanthoidis</i>	–
				<i>A. fabae mordvilkoi</i>	–
				<i>A. fabae solanella</i>	–
PstI	BclI	T [^] GATCA		<i>A. fabae fabae</i>	55 + 653
				<i>A. fabae cirsiacanthoidis</i>	55 + 653
				<i>A. fabae mordvilkoi</i>	55 + 653
				<i>A. fabae solanella</i>	–
HinfI	–	G [^] ANTC	<i>M. cerasi</i>	<i>M. cerasi cerasi</i>	85 + 623
TfiI	–	G [^] AWTC		<i>M. cerasi pruniavium</i>	–
AciI	–	CCGC		<i>M. cerasi cerasi</i>	85 + 623
				<i>M. cerasi pruniavium</i>	–
BstU	–	CG [^] CG		<i>M. cerasi cerasi</i>	–
				<i>M. cerasi pruniavium</i>	262 + 446
FauI	–	CCCGC		<i>M. cerasi cerasi</i>	–
				<i>M. cerasi pruniavium</i>	262 + 446

Список литературы

1. Дикая природа Беларуси [Электронный ресурс]. – 2009–2016. – Режим доступа: <http://wildlife.by/node/30827>. – Дата доступа: 13.01.2016.
2. Adaptive mechanisms of insect pests against plant protease inhibitors and future prospects related to crop protection: a review / M. L. R. Macedo [et al.] // *Protein & Peptide Letters*. – 2015. – Vol. 22. – P. 149–163.
3. Special plant species determines diet breadth of phytophagous insects: a study on host plant expansion of the host-specialized *Aphis gossypii* Glover / W. Wu [et al.] // *PLOS ONE*. – 2013. – 8 (4): e60832. doi:10.1371/journal.pone.0060832.
4. Peccoud, J. A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex / J. Peccoud, A. Ollivier, M. Plantegenest, J. C. Simon // *PNAS*. – 2009. – Vol. 106. – P. 7495–7500.
5. Raymond, B. On the processes shaping reproductive isolation in aphids of the *Aphis fabae* (Scop.) complex (Aphididae: Homoptera) / B. Raymond, J. B. Searle, A. E. Douglas // *Biological Journal of the Linnean Society*. – 2001. – Vol. 74. – P. 205–215.
6. Mitochondrial COI and morphological evidence for host specificity of the black cherry aphids *Myzus cerasi* (Fabricius, 1775) collected from different cherry tree species in Europe (Hemiptera, Aphididae) / R. Rakauskas [et al.] // *Zookeys*. – 2014. – Vol. 388. – P. 1–16.
7. 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.
8. Воронова, Н. В. Выявление криптических подвидов в эволюционно молодых группах тлей (Rhynchota: Homoptera: Aphididae) с использованием гена субъединицы I цитохромоксидазы *c* (COI) в качестве филогенетического маркера / Н. В. Воронова, С. В. Буга, В. П. Курченко // *Доклады НАН Беларуси*. – 2011. – Т. 55. – № 3. – С. 97–102.
9. Holman, J. Host plant catalog of aphids. Palaearctic region / J. Holman. – Berlin: Springer Science, 2009. – 1216 p.
10. Anstead, J. A. Mitochondrial DNA sequence divergence among *Schizaphis graminum* (Hemiptera: Aphididae) clones from cultivated and non-cultivated hosts: haplotype and host associations / J. A. Anstead, J. D. Burd, K. A. Shufran // *Bulletin of Entomological Research*. – 2002. – Vol. 92. – P. 17–24.
11. The 498 partial COI sequences of *A. fabae* and *M. cerasi* were analyzed. Twenty-one haplotypes of COI gene were detected for *A. fabae*, including all subspecies, and seven haplotypes were found in *M. cerasi*. Restriction maps and PCR-RFLP keys to identify *A. fabae fabae* / *A. fabae solanella* and *M. cerasi cerasi* / *M. cerasi pruniavium* were constructed.

Воробьева М. М., Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, e-mail: masch.89@mail.ru.

Воронова Н. В., Белорусский государственный университет, Минск, Беларусь, e-mail: nvoronova@bsu.by.

СОДЕРЖАНИЕ

<i>Гричик В. В.</i> Константин Ельский – исследователь фауны Южной Америки.....	3
<i>Wiącek J. P.</i> Wpływ warunków pogodowych, pokarmowych i gospodarki leśnej na zagęszczenia lęgowe sów, na przykładzie puszczyka <i>Strix aluco</i>	7
<i>Адамович Б. В., Макаревич О. А., Жукова Т. В.</i> Дрейссена как фактор изменения структуры макрозообентоса оз. Нарочь.....	8
<i>Александрович О. Р., Броварски Б., Стаховяк М.</i> Жужелицы (Coleoptera, Carabidae) болотного комплекса «Торфяки» (Мазурское Поозерье).....	11
<i>Алехнович А. В., Молотков Д. В.</i> Оценка лимитов вылова длиннопалого рака на основе определения продуктивности и выживаемости особей эксплуатируемых популяций.....	19
<i>Андрушевич Е. Н.</i> Изменения некоторых физиологических показателей женского организма в зависимости от функционального состояния и сезонов года.....	22
<i>Андрушкевич М. А., Минец М. Л., Тростень Е. В.</i> Жуки жужелицы парка «Альба» в окрестностях города Несвижа.....	24
<i>Байчоров В. М., Гигиняк Ю. Г., Гигиняк И. Ю.</i> Первые сведения о речных раках в водохранилище Большие Ляцкие национального парка «Беловежская пушча».....	26
<i>Бирг В. С., Лопатко Е. Г.</i> Применение информационно-коммуникативных технологий при преподавании зоологических дисциплин в высшей школе.....	27
<i>Богданович И. А., Островский О. А., Павлющик Т. Е., Ежова О. С.</i> Анализ возвратов колец лебедя-шипунa озера Нарочь.....	29
<i>Бойко С. В.</i> Мониторинг инвазийного для Беларуси вида – обыкновенной хлебной жужелицы.....	30
<i>Бородин О. И.</i> Новые данные по цикадовым (Hemiptera: Fulgoromorpha & Cicadomorpha) Восточного Предполесья.....	33
<i>Бречко Е. В., Янковская Е. Н., Войтка Д. В.</i> Влияние микробиологических препаратов и растительных экстрактов на динамику численности и уровень резистентности к химическим инсектицидам в популяции колорадского жука (<i>Leptinotarsa decemlineata</i> Say).....	35
<i>Булухто Н. П., Короткова А. А., Ермолаев Ю. Н.</i> Энтомофауна в условиях известкового карьера.....	38
<i>Велигуров П. А., Кузнецов А. А., Янута Г. Г.</i> Видовая и половозрастная структура копытных животных семейства оленьих до и после депопуляции дикого кабана.....	41
<i>Вербицкая О. Э., Лобановская П. Ю., Полоз С. В., Анисимова Е. И.</i> Видовой состав гельминтов и факторы, влияющие на его формирование в популяции оленя благородного... ..	43
<i>Вінчэўскі Дз. Я., Koks В. J., Schlaich А., Лукашэнка Ю. А.</i> Некаторыя асаблівасці гнездавання поплаўнага луня (<i>Circus pygargus</i>) на Магілёўшчыне (Беларусь).....	46
<i>Винчевский А. Е., Самусенко И. Э.</i> Бургомистр (<i>Larus hyperboreus</i>) – новый вид в орнитофауне Беларуси.....	48
<i>Воробьева М. М., Воронова Н. В.</i> Эффективность использования метода ПЦР-ПДРФ анализа для диагностики подвидов у тлей на примере <i>Aphis fabae</i> Scopoli, 1763 и <i>Muzus cerasi</i> (Fabricius, 1775).....	49
<i>Галиновский Н. Г., Аверин В. С.</i> Сообщества жесткокрылых (Ectognatha, Coleoptera) окрестностей скважин судовицкого нефтяного месторождения (Республика Беларусь).....	53
<i>Ганевич В. В.</i> Перекисное окисление белков в гепатопанкреасе слизня рыжего (<i>Arion rufus</i> L.) из наземных экосистем.....	57
<i>Гляковская Е. И., Рыжая А. В.</i> Современное состояние изученности таксономического состава членистоногих – фитофагов, повреждающих зеленые насаждения г. п. Порозово (Гродненская область, Беларусь).....	58
<i>Гляковская Е. И., Синчук О. В., Рыжая А. В.</i> Поврежденность листовых пластинок липы мелколистной (<i>Tilia cordata</i> Mill., 1768) липовой молью-пестрянкой (<i>Phyllonorycter issikii</i> (Kumata, 1963)) в условиях зеленых насаждений г. Гродно.....	61