



ТРАНСГРАНИЧНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО
В ОБЛАСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ
БЕЗОПАСНОСТИ И ОХРАНЫ
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Гомель
2018

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ
«ГОМЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени ФРАНЦИСКА СКОРИНЫ»

ТРАНСГРАНИЧНОЕ СОТРУДНИЧЕСТВО
В ОБЛАСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ
И ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

МАТЕРИАЛЫ IV МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

(Гомель, 4–5 июня 2018 года)

Электронное научное издание

Гомель
ГГУ имени Ф. Скорины
2018

ISBN 978-985-577-429-8

© Учреждение образования «Гомельский
государственный университет
имени Франциска Скорины», 2018

Трансграничное сотрудничество в области экологической безопасности и охраны окружающей среды [Электронный ресурс] : IV Международная научно-практическая конференция (Гомель, 4–5 июня 2018 года) : [материалы]. – Электронные текстовые данные (объем 13,2 Мб). – Гомель : ГГУ им. Ф. Скорины, 2018. – Систем. требования : IE от 11 версии и выше или любой актуальный браузер, скорость доступа от 56 кбит. – Режим доступа : <http://conference.gsu.by>. – Заглавие с экрана.

В сборнике материалов IV международной научно-практической конференции представлены основные результаты исследований в области экологической безопасности и охраны окружающей среды белорусских и зарубежных исследователей. Среди основных проблем, находящихся в центре внимания участников конференции, – использование ГИС-технологий и аэрокосмических методов для экологической оценки, моделирования и мониторинга природных объектов, изучение структуры и динамики наземных и водных экосистем, оценка экологического состояния радиационно загрязнённых и других экологически неблагоприятных территорий, исследования в области общей и региональной географии и геоэкологии.

Адресуется научным сотрудникам, преподавателям средних и высших учебных заведений, студентам, магистрантам, аспирантам, а также работникам системы природопользования, сотрудникам управленческих и хозяйственных структур.

(Материалы I, II и III конференций были изданы в Белорусском государственном университете транспорта в 2011, 2012 и 2014 годах).

Рецензенты:

канд. техн. наук В. Л. Грузинова, канд. биол. наук Е. И. Дегтярев,
канд. хим. наук Н. И. Дроздова

Редакционная коллегия:

О. В. Ковалёва (главный редактор), А. П. Гусев (зам. главного редактора),
А. Ф. Карпенко, А. И. Павловский, Т. А. Тимофеева,
Н. С. Шпилевская, А. С. Соколов

УО «ГГУ имени Ф. Скорины»
246019, Гомель, ул. Советская, 104,
Тел.: (0232) 57-39-03, 57-34-04
<http://www.gsu.by>

© Учреждение образования «Гомельский
государственный университет имени
Франциска Скорины», 2018

М. М. ВОРОБЬЁВА, Е. Н. ЖЕЛЕНГОВСКАЯ

**ПЦР-ПДРФ КЛЮЧИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТЛЕЙ
HYALOPTERUS PRUNI (GEOFFROY, 1762) И *HYALOPTERUS AMYGDALI*
(BLANCHARD, 1840) – ВРЕДИТЕЛЕЙ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР
В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ**

*УО «Мозырский государственный педагогический университет им. И.П. Шамякина»
г. Мозырь, Республика Беларусь
masch.89@mail.ru*

*Расшифрованные нуклеотидные последовательности гена COI (284 последовательности) использовали для построения рестрикционных карт и разработки ПЦР-ПДРФ ключей для корректной диагностики тлей *Hyalopterus pruni* (Geoffroy 1762) и *Hyalopterus amygdali* (Blanchard, 1840), принадлежащих к числу вредителей косточковых плодовых культур в Беларуси и сопредельных ей регионов.*

В странах с высоким уровнем развития растениеводства, в частности, плодоводства огромное внимание уделяют разработке технологий контроля численности насекомых-фитофагов. На сегодняшний день, высокую актуальность приобретает разработка систем защитных мероприятий, учитывающих численность, видовой состав и генетическую

структуру популяций вредителей и переносчиков заболеваний растений. Во многих странах Европы, в том числе и на территории Беларуси, значительное внимание уделяется разработке защитных мероприятий, направленных против сосущих вредителей, в частности тлей [1, 2]. Основываясь на литературных данных, о формировании у этих насекомых устойчивости к инсектицидам [3], крайне необходимым является не только ограничение численности этих вредителей, но и мониторинг состояния их популяции и распространение на территории нашей страны.

Существенной частью мониторинга состояния комплексов вредителей является корректная видовая диагностика. В случае, когда морфологические ключи не предоставляют достаточной информации, наиболее точным методом для установления видовой принадлежности насекомых признана ДНК-идентификация. В частности, среди насекомых, вредящих косточковым плодовым культурам, затруднение вызывает идентификация тлей рода *Hyalopterus* Koch, а именно *Hyalopterus pruni* (Geoffroy 1762) и *Hyalopterus amygdali* (Blanchard, 1840), образующих смешанные колонии, как на первичных (*Prunus* spp.), так и на вторичных растениях-хозяевах (*Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steud.) [4, 5]. Поскольку тли рода *Hyalopterus* принадлежат к числу серьезных вредителей косточковых плодовых культур, корректная идентификация видов *H. pruni* и *H. amygdale* играет важную роль при мониторинге их численности и распространения в условиях Беларуси и сопредельных ей регионах, а также позволит рационализировать применяемые защитные мероприятия [6].

Использование молекулярного маркера – гена субъединицы 1 цитохромоксидазы *c* (COI) позволяет, позволяет идентифицировать виды у тлей, трудно дифференцируемые по морфологическим признакам. Поскольку в Международных генетических базах данных (BOLD, GenBank (NCBI)) [7, 8] представлены нуклеотидные последовательности гена COI для тлей рода *Hyalopterus*, в рамках настоящего исследования было принято решение разработать ПЦР-ПДРФ ключи для корректной диагностики тлей *H. pruni* и *H. amygdale*, принадлежащих к числу вредителей косточковых плодовых культур.

Нуклеотидные последовательности гена COI *H. pruni* и *H. amygdale* получили из базы данных BOLD. Всего было проанализировано 280 последовательностей *H. pruni* (Германия, Канада, Франция, США, Индия, Болгария, Китай, Южная Корея, Австралия, Пакистан, Великобритания и Греция) и 4 последовательности *H. amygdale* (Египет и Франция). Множественное выравнивание нуклеотидных последовательностей генов COI для каждого вида тлей в отдельности провели в программе MEGA7. Число и дивергенцию гаплотипов рассчитали с использованием программы DNAsp. Поиск сайтов рестрикции в нуклеотидных последовательностях осуществляли в программе BioEdit. Графические рестрикционные карты построили в программе CodonCodeAligner 4.2.7. с использованием всех известных ферментов рестрикции и их изошизомеров. По результатам анализа построенных рестрикционных карт разработали ПЦР-ПДРФ ключи, на основании которых выбрали по два фермента для рестрикционного анализа тлей *H. pruni* и *H. amygdale*, провели визуализацию предполагаемых результатов рестрикции и электрофоретического разделения фрагментов методом *in silico*.

На основе анализа всех доступных нуклеотидных последовательностей гена COI рассчитали число и дивергенцию гаплотипов для каждого вида тлей рода *Hyalopterus* в отдельности. Анализируя доступные в Международных базах данных нуклеотидных последовательностей (284 последовательности), у тлей *H. pruni* выявлено 6 гаплотипов COI со средним значением дивергенции гаплотипов 0,286, а у *H. amygdale* – 1 гаплотип COI со средним значением дивергенции 0,000. Учитывая все выявленные гаплотипы COI, провели сравнительный анализ рестрикционных карт, построенных для каждого вида тлей в отдельности (рисунок 1).

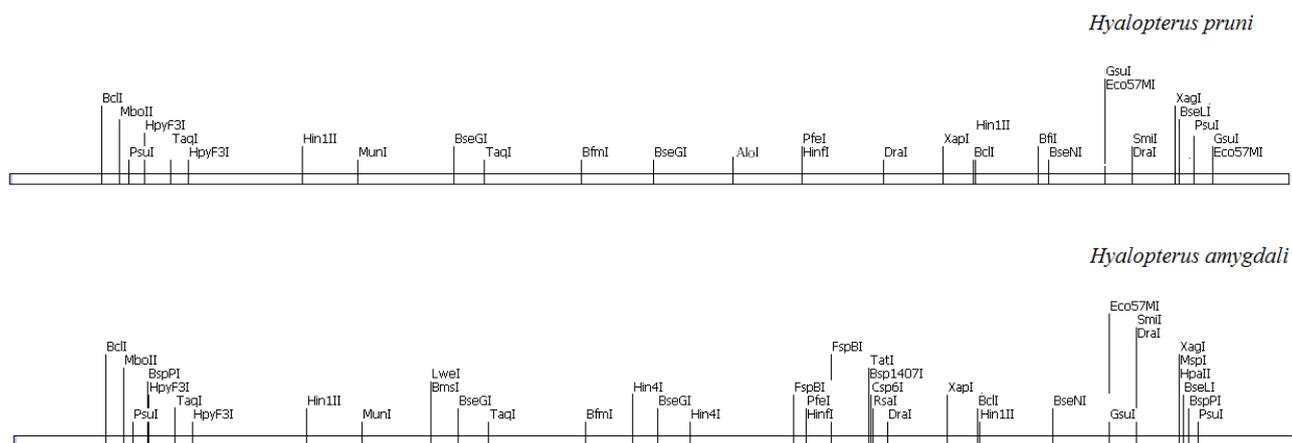


Рисунок 1 – Рестрикционные карты, построенные на основе анализа нуклеотидных последовательностей гена COI, содержащие информацию о наличии сайтов узнавания для всех ферментов рестрикции, тлей рода *Hyalopterus*

Всего выявлено 8 эндонуклеаз, которые можно использовать для корректной диагностики тлей *H. pruni* и *H. amygdale*, образующих смешанные колонии на одних и тех же растениях-хозяевах. В частности, рестриктазы *HinFI*, *GsuI*, *Hpy188III* и *AloI* имели сайты узнавания только в последовательностях гена COI тлей *H. pruni*, а *Hin4I*, *FspBI*, *TatI* и *Csp6I* – в последовательностях COI тлей *H. amygdale*. На основе полученных результатов созданы ПЦР-ПДРФ ключи, позволяющие проводить диагностику анализируемых видов тлей рода *Hyalopterus* (таблица 1).

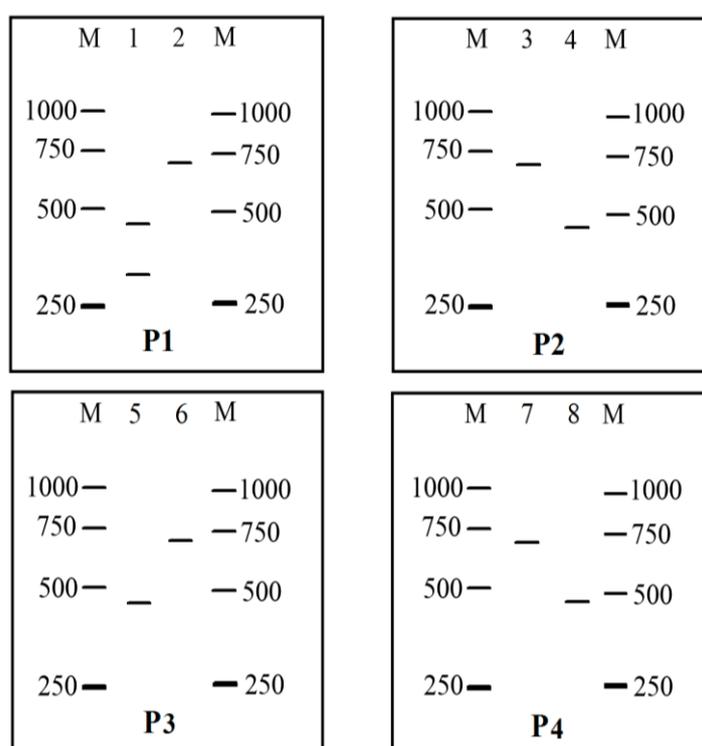
Таблица 1 – ПЦР-ПДРФ ключи, позволяющие проводить корректную диагностику тлей *Hyalopterus pruni* и *Hyalopterus amygdale*, созданные на основе анализа нуклеотидных последовательностей фрагмента гена COI

Сайт узнавания фермента	Подвид	Длины образующихся фрагментов
1	2	3
HinFI		
G [^] ANTC	<i>H. pruni</i>	440+269
	<i>H. amygdale</i>	–
GsuI		
CTGGAG	<i>H. pruni</i>	647+62
	<i>H. amygdale</i>	–
Hpy188III		
TC [^] NNGA	<i>H. pruni</i>	245+464
	<i>H. amygdale</i>	–
AloI		
GAACNNNNNTCC	<i>H. pruni</i>	361+348
	<i>H. amygdale</i>	–
Hin4I		
GAYNNNNNVTC	<i>H. pruni</i>	–
	<i>H. amygdale</i>	361+348
FspBI		
C [^] TAG	<i>H. pruni</i>	–
	<i>H. amygdale</i>	432+277 453+256

Окончание таблицы 1

1	2	3
TatI		
W [^] GTACW	<i>H. pruni</i>	–
	<i>H. amygdale</i>	453+256
Csp6I		
G [^] TAC	<i>H. pruni</i>	–
	<i>H. amygdale</i>	475+234
Примечание – 1) «–» – сайт узнавания данной эндонуклеазы в последовательности отсутствует; 2) ^ – точка разрезания молекулы ДНК		

Для того, чтобы оценить применимость данного подхода в реальных исследованиях мы провели визуализацию предполагаемых результатов рестрикции и электрофоретического разделения получаемых фрагментов методом *in silico* (рисунок 2).



М – маркер молекулярного веса; 1,3,5,7 – *H. pruni*; 2,4,6,8 – *H. amygdale*

P1 – рестриктаза HinFI; P2 – TatI; P3 – AhoI; P4 - Csp6I

Рисунок 2 – Компьютерное моделирование электрофоретического разделения фрагментов, получаемых в результате ПЦР-ПДРФ анализа тлей *Hyalopterus pruni* и *Hyalopterus amygdale*

Таким образом, в рамках настоящего исследования, мы построили рестрикционные карты и разработали ПЦР-ПДРФ ключи для диагностики трудно дифференцируемых по морфологическим признакам тлей *H. pruni* и *H. amygdale*, принадлежащие к числу вредителей косточковых плодовых культур. Полученные результаты свидетельствуют о том, что метод ПЦР-ПДРФ анализа может быть использован для корректной диагностики тлей рода *Hyalopterus*, представляющих угрозу косточковым плодовым культурам в условиях Беларуси и сопредельных ей регионах.

Список литературы

- 1 Beutel, R. Insect morphology and phylogeny / R. Beutel, F. Friedrich, S. Ge, X. Yang. – Berlin : Walter de Gruyter GmbH, 2013. – 533 p.
- 2 Буга, С.В. Дендрофильные тли Беларуси / С.В. Буга. – Минск : БГУ, 2001. – 98 с.
- 3 Vilcinskis, A. Biology and ecology of aphids / A. Vilcinskis. – London : Taylor & Francis Group, 2016. – 282 p.
- 4 Aphids on the World's Plants: An online identification and information guide [Electronic resource] / ed. R. Blackman. – London : Natural History Museum, 2012. – Mode of access: <http://www.aphidsonworldsplants.info>. – Date of access: 27.04.2018.
- 5 Molecular and morphological evaluation of the aphid genus *Hyalopterus* Koch (Insecta: Hemiptera: Aphididae), with a description of a new species / J.D. Lozier [et al.] // *Zootaxa*. – 2008. – Vol. 1688. – P. 1–19.
- 6 Сауткин, Ф.В. Структура комплекса энтомофагов сливовой опыленной тли (*Hyalopterus pruni*) на вторичных растениях-хозяевах в условиях Нарочанского региона / Ф.В. Сауткин, С.В. Буга, Т.В. Жукова // *Защита растений: сборник научных трудов*. – 2013 – Вып. 37. – С. 186–192.
- 7 BOLD Systems v4 [Электронный ресурс] / BOLD Systems v4. – Ontario, 2017. – Режим доступа: http://www.barcodinglife.org/index.php/TaxBrowser_Home. – Дата доступа: 15.04.2018.
- 8 GenBank Overview [Electronic resource] / GenBank Overview. – USA, 2017. – Mode of access: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>. – Data of access: 15.04.2018.

M. M. VOROBOVA, Ye. N. ZHELENGOVSKAYA

PCR-RELP KEYS FOR IDENTIFICATION OF APHIDS OF *HYALOPTERUS PRUNI* (GEOFFROY, 1762) AND *HYALOPTERUS AMYGDALI* (BLANCHARD, 1840) OF PESTS OF FRUIT HORTICULTURE IN BELARUS

*The decoded nucleotide sequences of the COI gene (284 sequences) were used to construct restriction maps and the development of PCR-RFLP keys for the correct diagnosis of the aphid *Hyalopterus pruni* (Geoffroy, 1762) and *Hyalopterus amygdali* (Blanchard, 1840), pests of fruit horticulture in Belarus and adjacent regions.*

Хасанова Э.Х., Яблочкина Н.Л. СПОСОБЫ ЗАЩИТЫ ОСОБО ОХРАНЯЕМЫХ ПРИРОДНЫХ ТЕРРИТОРИЙ ЮГО-ВОСТОКА ТОМСКОЙ ОБЛАСТИ НА ПРИМЕРЕ ЛЕСОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЗЫРЯНСКОГО ЛЕСНИЧЕСТВА.....	161
Хмарун Т.А. АНАЛИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО ПОКРОВА Г. СВЕТЛОГОРСКА.....	165
Чернявин П.В. ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЗАПОВЕДНИКА «КОЛОГРИВСКИЙ ЛЕС».....	170
Шершнёв О.В. АНАЛИЗ СЦЕНАРИЕВ ПЕРСПЕКТИВНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И СОСТОЯНИЯ ВОДНЫХ РЕСУРСОВ В МИРЕ.....	172
Шершнёв О.В. МОНИТОРИНГ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ: ГЛОБАЛЬНЫЙ И НАЦИОНАЛЬНЫЙ АСПЕКТЫ.....	177
ПРИКЛАДНАЯ ЭКОЛОГИЯ И РАДИОЭКОЛОГИЯ.....	181
Kulikov P., Zhuravska N. MANAGEMENT OF PRODUCTION PROCESSES.....	181
Бабкина Л.А., Черкашина Е.Е. ОЦЕНКА ФИТОТОКСИЧНОСТИ ПОЧВ, ЗАГРЯЗНЕННЫХ ОТРАБОТАННЫМИ ПЕРВИЧНЫМИ ХИМИЧЕСКИМИ ИСТОЧНИКАМИ ТОКА.....	185
Булко Н.И., Митин Н.В., Шабалева М.А., Толкачева Н.В., Козлов А.К. ДИНАМИКА НАКОПЛЕНИЯ ¹³⁷Cs МОХОВЫМ ПОКРОВОМ В СОСНОВЫХ И БЕРЕЗОВЫХ НАСАЖДЕНИЯХ ДАЛЬНЕЙ И БЛИЖНЕЙ ЗОН АВАРИИ НА ЧАЭС.....	188
Воробьева М.М., Желенговская Е.Н. ПЦР-ПДРФ КЛЮЧИ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ТЛЕЙ <i>HYALOPTERUS PRUNI</i> (GEOFFROY, 1762) И <i>HYALOPTERUS AMYGDALI</i> (BLANCHARD, 1840) – ВРЕДИТЕЛЕЙ ПЛОДОВЫХ КУЛЬТУР В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ.....	194
Гарбарук Д.К., Кудин М.В., Углынец А.В. НАКОПЛЕНИЕ ¹³⁷Cs И ⁹⁰Sr ДОМИНАНТНЫМИ ВИДАМИ ПОДРОСТА И ПОДЛЕСКА В БЕРЕЗНЯКАХ ЗОНЫ ОТЧУЖДЕНИЯ ЧЕРНОБЫЛЬСКОЙ АЭС.....	198
Головешкин В.В., Калиниченко С.А., Чудинов А.Н. АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ ВЕРТИКАЛЬНОЙ МИГРАЦИИ РАДИОНУКЛИДОВ В ПОЧВАХ БЛИЖНЕЙ ЗОНЫ АВАРИИ НА ЧАЭС.....	204
Дайнеко Н.М., Тимофеев С.Ф., Жадько С.В. ТЕХНОГЕННОЕ ЗАГРЯЗНЕНИЕ ТЕРРИТОРИЙ ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ, ПРИГРАНИЧНЫХ С БРЯНСКОЙ ОБЛАСТЬЮ РОССИИ.....	208
Дейкина Н.М. РАДИАЛЬНАЯ МИГРАЦИЯ РАДИОАКТИВНЫХ ИЗОТОПОВ В ПОЧВЕ И ЛЕСНОЙ ПОДСТИЛКЕ УЧАСТКА ЛЕСНОГО МАССИВА В РАЙОНЕ СЕЛА КЦЫНЬ КАЛУЖСКОЙ ОБЛАСТИ.....	210
Дмитриева О.А., Короткова Л.Н., Латыпова Ф.М. ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ЭКСПЛУАТАЦИИ ЦЕХА ПО ПЕРЕРАБОТКЕ НЕФТИ И ГАЗОВОГО КОНДЕНСАТА ОАО «ГАЗПРОМ НЕФТЕХИМ САЛАВАТ НА АТМОСФЕРНЫЙ ВОЗДУХ.....	213
Иванцов Д.Н., Гулаков А.В. АКТИВНОСТЬ ¹³⁷Cs В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ СИНЦА (<i>ABRAMIS BALLERUS</i> L.), ВЫЛОВЛЕННОГО НА ТЕРРИТОРИИ ПОЛЕССКОГО РАДИАЦИОННО-ЭКОЛОГИЧЕСКОГО ЗАПОВЕДНИКА.....	217
Касьянчик В.В. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ КОМПЛЕКСНЫХ МИНЕРАЛЬНЫХ УДОБРЕНИЙ ПОД ЗЕРНОВЫЕ КУЛЬТУРЫ В УСЛОВИЯХ РАДИОАКТИВНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ.....	222